

Aus der 1. Medizinischen Klinik und Polyklinik
Direktor: Univ. Prof. Dr. med. A. Schömig
und aus dem
Institut für experimentelle Onkologie und Therapieforschung
Direktor: Univ. Prof. Dr. med. B. Gansbacher
der Technischen Universität München

angefertigt unter der Leitung
von
PD Dr. med. Dr. med. habil. M. Seyfarth

Eingereicht über
Univ. Prof. Dr. med. vet. M. Stangassinger
Institut für Physiologie, Physiologische Chemie
und Tierernährung der
Ludwig-Maximilians-Universität München

**Untersuchung zum Einfluss der ischämischen Präkonditionierung auf die Freisetzung
von Noradrenalin und die ventrikuläre Flimmerrate am Rattenherz ex vivo
(Langendorff-Modell) unter Berücksichtigung des transmembranären
Protonengradienten**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Bernd Kinter

aus

Stuttgart

München 2003

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. R. Stolla

Referent: Univ.-Prof. Dr. M. Stangassinger

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. J. Meyer

Tag der Promotion: 18. Juli 2003

Meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit gewidmet

1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	1
2	EINLEITUNG	2
3	SCHRIFTTUM	4
3.1	Die Rolle der Katecholamine bei der Ischämie am Herzen	4
3.1.1	Erhöhte Plasmakonzentration von Katecholaminen	4
3.1.2	Lokale Katecholaminfreisetzung im Myokard als Folge der Stimulation sympathischer Nerven	5
3.1.3	Lokale metabolische Noradrenalinfreisetzung	7
3.1.4	Lokale metabolische, nichtoxyzytotische Noradrenalinfreisetzung während Ischämie und Anoxie	8
3.1.5	Mechanismus der lokalen metabolischen Katecholaminfreisetzung während der Ischämie (s. Abb.1)	10
3.2	Ischämieinduzierte Arrhythmien	12
3.2.1	Erhöhte Empfindlichkeit des ischämischen Myokards auf adrenerge Stimulation	12
3.2.1.1	β -adrenerge Rezeptoren und die Adenylatcyclase-Aktivität während der akuten myokardialen Ischämie.	12
3.2.1.2	Erhöhte Dichte und vermehrte Kopplung/Verschaltung von α_1 -adrenergen Rezeptoren am Herz	14
3.2.2	Arrhythmogene Wirkung der adrenergen Stimulation auf das ischämische Myokard	15
4	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	19
4.1	Zielsetzungen	19
4.2	Material und Methoden	20
4.2.1	Versuchstiere	20
4.2.2	Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne vorhergehender ischämischer Präkonditionierung	21
4.2.2.1	Experimentelles Vorgehen	21
4.2.2.1.1	Versuchsprotokoll	21
4.2.2.1.2	Präparation der Herzen	22
4.2.2.1.3	Koronarligatur	23
4.2.2.1.4	Ischämiegrößenbestimmung	23
4.2.2.2	Versuchsapparatur (s. Abb. 3)	23
4.2.2.3	Auswertungskriterien	26
4.2.2.3.1	Elektrokardiogramm (EKG)	26
4.2.2.3.2	Perfusionsdruck	29
4.2.2.3.3	Probenverarbeitung	30

4.2.2.3.4	Bestimmungsmethoden	30
4.2.3	Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne vorhergehender globaler Ischämie/Präkonditionierung bei azidotischer Perfusion während bzw. zwischen den Intervallen globaler Ischämie	31
4.2.4	Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne vorhergehender globaler Ischämie/Präkonditionierung bei alkalischer Perfusion während bzw. zwischen den Intervallen globaler Ischämie	32
4.2.5	Lösungen	33
4.2.6	Statistik	33
4.3	Ergebnisse	35
4.3.1	Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne ischämischer Präkonditionierung	35
4.3.1.1	Noradrenalinfreisetzung	35
4.3.1.2	Inzidenz von Kammerflimmern	37
4.3.1.3	Einfluss der Höhe des Druckanstiegs nach Koronarligatur auf die Inzidenz von Kammerflimmern und die Noradrenalinfreisetzung	38
4.3.2	Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne vorhergehender ischämischer Präkonditionierung bei azidotischer Perfusion während bzw. zwischen den Intervallen globaler Ischämie	42
4.3.2.1	Noradrenalinfreisetzung	42
4.3.2.2	Inzidenz von Kammerflimmern	44
4.3.3	Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit vorhergehender globaler Ischämie/Präkonditionierung bei alkalischer Perfusion zwischen den Intervallen globaler Ischämie	45
4.3.3.1	Noradrenalinfreisetzung	45
4.3.3.2	Inzidenz von Kammerflimmern	46
5	DISKUSSION	48
5.1	Grundlegende Erkenntnisse	48
5.2	Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Noradrenalinfreisetzung während anhaltender globaler Ischämie und die Rolle des transmembranären Protonengradienten	48
5.3	Die Wirkung intrazellulärer, durch NH_4^+ erzeugter Azidose auf die Noradrenalinfreisetzung während der globalen Ischämie	50
5.4	Zum Zusammenhang zwischen ischämischer Präkonditionierung neuralen Gewebes und ischämieinduziertem Kammerflimmern	51

5.5	Das pH-Wert regulierende Ionen-Transportsystem und der Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Noradrenalinfreisetzung	52
5.6	Ischämische Präkonditionierung und ihre klinische Relevanz	53
6	ZUSAMMENFASSUNG	55
7	SUMMARY	56
8	LITERATURVERZEICHNIS	57
9	LEBENS LAUF	67
10	DANKSAGUNG	68

1 Abkürzungsverzeichnis

ATP	Adenosintriphosphat
CAT1	Carnitinacyltransferase
DOPEG	3,4 Dihydroxyphenylethylenglycol
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
IP3	Inositol-1,4,5-trisphosphat
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAD	Ramus interventricularis anterior der linken Koronararterie („left anterior descendent“)
PIP2	Phosphatidylinositol
POCA	Natrium 2-[5-(4-chlorophenyl)pentyl] -oxirane-2-carboxylat
SEM	Standardfehler des Mittelwertes
SD	Standardabweichung
VF	Kammerflimmern
VT	Ventrikuläre Tachykardie
x	Mittelwert

2 Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen stehen in den Mortalitätsstatistiken der Industrienationen an erster Stelle. Besondere Bedeutung kommt dem akuten Myokardinfarkt zu, der eine Letalität von etwa 55% aufweist. In den ersten Stunde nach dem Ereignis ist die Sterberate mit über 50% der Gesamtmortalität des Myokardinfarktes besonders hoch^{80,96}. Bereits 1968 zeigten Norris et al.⁹⁴, dass die Frühletalität vor allem auf Herzrhythmusstörungen zurückzuführen ist. Zahlreiche weitere Studien bestätigen dieses^{71,74,102}.

So starben beispielsweise in Deutschland 1998 85.000 Menschen am plötzlichen Herztod. Das waren 10% aller Sterbefälle¹³⁵. Weniger als 20% dieser Todesfälle werden auf Bradykardien oder Asystolien zurückgeführt⁵⁵. Weitaus häufiger sind ventrikuläre Tachyarrythmien für den plötzlichen Herztod verantwortlich zu machen^{59,84,102}. Diese beginnen in der überwiegenden Zahl der dokumentierten Fälle mit ventrikulären Tachykardien, die in Kammerflimmern (VF) übergehen⁹.

Die Ursache lebensbedrohlicher ventrikulärer Arrhythmien ist in den meisten Fällen eine ischämische Alteration des Myokards. Das unterstreichen Studien, die zeigen, dass der plötzliche Herztod in 70 bis 85% der Fälle mit dem Vorhandensein einer koronaren Herzkrankheit (KHK) einhergeht^{59,90,99}. Nach tierexperimentellen Untersuchungen können die akute Ischämie, der Prozess der Infarzierung sowie das vernarbte bzw. chronisch ischämische Myokard, Ursachen von malignen Tachyarrhythmien sein⁵⁷. Lebensbedrohliche Tachyarrhythmien, die auf einer Erkrankung des Myokards beruhen, sind durch programmierte Ventrikelstimulationen einer klinischen Untersuchung zugänglich. Allerdings hat die programmierte Ventrikelstimulation bei asymptomatischen Postinfarktpatienten nur einen positiv prädikativen Wert von 30% für den plötzlichen Herztod¹⁰³. Das macht deutlich, dass dynamische Faktoren, wie z. B. die akute Myokardischämie, ausschlaggebend für den plötzlichen Herztod sein müssen.

Studien aus Klinik und Pathologie demonstrieren eine deutliche Korrelation zwischen einer akuten Ischämie und dem plötzlichen Herztod. So wurde bei Patienten mit KHK nach plötzlichem Herztod zu 81% eine frische okkludierende Koronararterienveränderung festgestellt^{27,144}. Die Untersuchung klinischer Parameter führte zu einer gleichartigen Korrelation. Goldstein et al.⁴³ untersuchten erfolgreich reanimierte Patienten mit KHK. Davon zeigten 78% Zeichen einer akuten Ischämie, während nur 44% einen Myokardinfarkt entwickelten. Markus et al.⁷⁹ ermittelten, dass Patienten im Zustand nach Herzinfarkt zu 58% Angina pectoris vor einem tödlichen tachyarrhythmischen Ereignis entwickelten.

Die Ergebnisse aus Studien zum akuten Myokardinfarkt bestätigen ebenfalls die große Bedeutung der akuten Ischämie für die Entstehung von VF. Bei etwa der Hälfte aller Fälle trat VF bereits in den ersten Stunde nach Symptombeginn auf^{95,96}. Demnach scheint zum Auslösen von VF eine noch reversible ischämische Schädigung ausreichend zu sein.

Den unmittelbaren Zusammenhang zwischen einer akuten Myokardischämie und lebensbedrohlichen Tachyarrhythmien haben Langzeit-EKG-Studien mit ST-Segmentanalyse hervorgehoben, die zeigten, dass die akute Ischämie ein häufiger, gleichzeitig aber sehr variabler und vielen Wechselwirkungen unterworfenen Faktor bei der Auslösung des plötzlichen Herztods ist¹⁶⁰. Insbesondere ist das Ausmaß einer sympathoadrenergen Aktivierung zum Zeitpunkt der Ischämie von besonderer Bedeutung^{58,118,131}. Es konnte eine Abhängigkeit von der Dauer, der Schwere und der Ausdehnung der Ischämie aufgezeigt werden. So führten ischämische Episoden unter 4 Minuten nur selten zu Arrhythmien. Hingegen betrug die kritische Ischämiedauer für gefährliche Tachyarrhythmien ca. 15 Minuten¹⁵⁹.

Nun scheint das Herz bereits über potente Mechanismen zu verfügen, um das Entstehen von gefährlichen Rhythmusstörungen zu unterdrücken. Das wird an dem Phänomen des 'ischemic preconditioning' deutlich. Demnach können kurze, nicht arrhythmogene Ischämieperioden das Herz vor dem Entstehen gravierender Arrhythmien einer nachfolgenden längeren Ischämieperiode schützen⁹⁷. Hier wird auch die Involvierung zahlreicher Mediatoren der Ischämie vermutet. Die Suche nach potentiellen, endogenen antiarrhythmischen Substanzen, die gerade in der Myokardischämie protektiv wirken, gewinnt daher verstärktes Interesse.

Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, den Einfluss einer ischämischen Präkonditionierung auf die Induktion ventrikulärer Arrhythmien bei regionaler Ischämie unter azidotischer bzw. alkalischer Perfusion zu überprüfen und die Rolle adrenerger Stimulation zu ergründen. Außerdem soll geklärt werden, ob der Mechanismus der ischämischen Präkonditionierung von einem transmembranären Protonengradienten abhängig ist.

3 Schrifttum

3.1 Die Rolle der Katecholamine bei der Ischämie am Herzen

3.1.1 Erhöhte Plasmakonzentration von Katecholaminen

Es besteht Übereinstimmung in der Literatur darüber, dass im frühen Stadium des Myokardinfarkts die Konzentration der Plasmakatecholamine erhöht ist^{11,12,48,61,91,115,129,152}. Bei unkomplizierten Infarkten erreichen die Plasmakonzentrationen von Noradrenalin und Adrenalin knapp das Fünffache ihres normalen Wertes. Vergleichbare Plasmakonzentrationen findet man beim Gesunden bei leichter körperlicher Belastung. Dramatisch erhöhte Konzentrationen von Katecholaminen im Plasma, von denen man per se pathologische Auswirkungen erwartet, kann man bei Patienten mit Lungenödem oder mit kardiogenem Schock beobachten¹¹.

Die Konzentration von Plasmakatecholaminen während des frühen Infarktstadiums hängt vom Ausmaß der Myokardschädigung und den haemodynamischen Folgen des Infarktes ab. In experimentellen Studien zeigten Karlsberg et al.⁶¹ sowohl den deutlichen Zusammenhang zwischen der Konzentration an Plasmakatecholaminen und der anatomischen Größe der Myokardnekrose als auch der Reduzierung des "cardiac-output" nach koronarem Verschluss. Beim Infarkt des menschlichen Herzens fanden Schömig et al.¹¹⁵ einen direkten Zusammenhang zwischen der Plasmakonzentration von Noradrenalin und Adrenalin, und der angiographisch ermittelten "Ejektion" des linken Ventrikels. Nach Reperfusion des ischämischen Myokards, die durch Lysis des koronaren Thrombus innerhalb der ersten drei Stunden des Infarktes erfolgt war, kehrten die Plasmakonzentrationen rasch beinahe auf Normalwerte zurück¹¹⁵, trotz einer noch eingeschränkten hämodynamischen Funktion des Herzes³³.

Dieser Effekt während der frühen Ischämie auf die Konzentration der Plasmakatecholamine ist die Folge einer veränderten Aktivität der kardialen Reflexe, welche wiederum im direkten Zusammenhang mit den metabolischen Veränderungen während der Ischämie im schlecht perfundierten Myokard stehen⁷⁸.

Von einem direkten, das Myokard schädigendem Einfluss der erhöhten Plasmakatecholamine in nennenswertem Umfang kann nicht ausgegangen werden, da die ischämischen Areale kaum von den im Blutkreislauf zirkulierenden Katecholaminen erreicht werden. Experimentelle und klinische Hinweise auf eine Beteiligung der Plasmakatecholamine bei der Entwicklung von malignen Arrhythmien und der Entstehung von Myokardschäden liegen nur spärlich vor^{61,12}.

Zellschädigungen und Arrhythmien sind eher die Folge von erhöhten Noradrenalin-konzentrationen innerhalb des ischämischen Myokards als im Plasma. Andererseits verursacht eine erhöhte Sympathikusaktivität eine erhöhte Herzfrequenz und eine Erhöhung des Blutdrucks, was wiederum indirekt zu einer vermehrten Zellschädigung durch den erhöhten Sauerstoffbedarf innerhalb des Myokards führen kann¹⁰⁹.

Die Aktivierung des Sympathikus hat eine Erhöhung der Plasmakatecholamine zur Folge. Dies ist das Resultat weitaus höherer lokaler Noradrenalin-konzentrationen im Bereich der sympathischen Nervenenden⁶⁶.

Der Anstieg der Noradrenalin-konzentration im Plasma während eines Myokardinfarktes ist Folge der gesteigerten Aktivität des gesamten sympathischen Nervensystems und nicht die der lokalen Freisetzung am Herz. Der Anteil der Noradrenalin-freisetzung des Herzens beträgt³⁵ nur 2 bis 3 % von dem des gesamten Körpergewebes.

Weiterhin ist während der Myokardischämie das Auswaschen von Noradrenalin aus den schlecht perfundierten Arealen stark beeinträchtigt und nur in der Reperfusion gelangt Noradrenalin, das im Ischämiebereich freigesetzt wurde, in relevanter Menge in den Blutkreislauf¹⁰⁹.

3.1.2 Lokale Katecholaminfreisetzung im Myokard als Folge der Stimulation sympathischer Nerven

Schmerz, Angst und Reflexaktivierung des sympathischen Nervensystems verursachen nicht nur eine erhöhte periphere Noradrenalin-freisetzung, sondern führen auch zu einer verstärkten Sympathikusaktivität am Herz¹⁰⁹.

Die Erhöhung der Aktivität sympathischer Nerven über Reflexe basiert hauptsächlich auf zwei Mechanismen:

- a) Kardiovaskuläre Reflexe, ausgelöst durch die Aktivierung von Druck- und Volumenrezeptoren nach Abfall des Blutdrucks und des Herzminutenvolumens
- b) Reflexe, die durch afferente Nerven aus ischämischen Myokardbezirken ausgelöst werden⁷⁸.

Für die Aktivierung dieser Mechanismen sind lokale Azidose¹²¹, Akkumulation von Metaboliten und Zellwanddehnung wichtige Faktoren. Diese Reflexe, welche ihren Ursprung im ischämischen Myokard haben, unterscheiden sich bei Hinter- und Vorderwandinfarkten und können sowohl zu erhöhter als auch gedämpfter sympathischer Aktivität am Herz führen¹⁴³.

Deshalb wurde bei experimentell erzeugtem Verschluss der Koronararterie häufig nur ein leichter und kurz andauernder Anstieg der Impulse des Sympathikus am Herz beobachtet¹⁰⁹, bzw. sogar eine verminderte Exozytose bei elektrischer Stimulation¹²¹.

Beim normal perfundiertem Herz führt eine erhöhte Impulsfrequenz von efferenten, kardialen Nerven zu einem Anstieg der Noradrenalinfreisetzung und dadurch zu einer erhöhten sympathischen Stimulation der myokardialen Zellen. Im Gegensatz dazu schützt sich schlecht perfundiertes Myokard schon innerhalb der ersten Minuten einer Ischämie durch verschiedene Mechanismen gegen eine erhöhte lokale Konzentration an Katecholaminen^{24,25,104}.

Übermäßige Akkumulation von Noradrenalin wird durch eine schnelle Elimination der Amine, dem neuronalen Uptake (uptake1) verhindert²⁴. Der Uptake-Mechanismus hängt energetisch von einem intakten Natriumgradienten an der Zellmembran des sympathischen Neurons ab^{56,108}.

Bei totaler Ischämie oder Anoxie bleibt dieser Mechanismus bis zu einer Dauer von mindestens 10 Minuten erhalten. Im frühen Stadium der Ischämie führt der reduzierte Perfusionsfluss zu einer erhöhten Effizienz der neuronalen Elimination des Noradrenalin. Die Extraneuronale Elimination von Noradrenalin (uptake2) spielt eine untergeordnete Rolle während der Ischämie¹¹¹.

Es zeigte sich, dass eine während der Ischämie stimulatorisch erzeugte exozytotische Noradrenalinfreisetzung durch präsynaptische Rezeptoren moduliert wird¹⁰⁴.

Während die effektivste Art der Modulation bei einer normalen Sauerstoffversorgung über die α_2 -Adrenorezeptoren erfolgt, wird die Hemmung der Freisetzung vor allem durch Adenosin bestimmt^{69,134}.

Im Stadium der Ischämie erreicht die Adenosinkonzentration im extrazellulären Raum innerhalb der ersten 3 Minuten einen Wert, der die sympathisch stimulierte Noradrenalinfreisetzung um 2/3 reduziert¹⁰⁴. Diese Hemmung der Noradrenalinfreisetzung wird über A₁-Adenosin Rezeptoren gesteuert und kann durch potente Inhibitoren des Rezeptors wie 8-Phenyltheophylline aufgehoben werden¹⁰⁴.

Der Energiemetabolismus im Myokard während der frühen Ischämie hat auf diese Weise über die Bereitstellung von Adenosin einen bedeutenden Einfluss auf die exozytotische Noradrenalinfreisetzung am sympathischen Neuron¹⁰⁹.

Mit zunehmender Dauer der Ischämie (>10min) nimmt die Konzentration an Adenosin-triphosphat (ATP) innerhalb des sympathischen Neurons dramatisch ab. Unter diesen Bedingungen kommt die exozytotische Noradrenalinfreisetzung zum Stillstand, da dieser Freisetzungsmechanismus einen hohen ATP-Bedarf besitzt^{64,5}.

Die zuvor erwähnten Mechanismen (effiziente Noradrenalinelimination aus dem extrazellulären Raum, präsynaptische Hemmung der Freisetzung durch Adenosin und die ATP-Abhängigkeit der Exozytose) hemmen alle effektiv die Akkumulation von Noradrenalin im Myokard innerhalb der ersten Minuten einer Ischämie.¹⁰⁹

Zwar beschrieben Wollenberger und Shahab in früheren Veröffentlichungen eine massive Freisetzung von Katecholaminen innerhalb der ersten 3 Minuten der Ischämie, sowohl am isolierten Herz¹⁵⁷ als auch nach Koronarligatur beim anästhesierten Hund¹²³, jedoch konnten diese Ergebnisse weder am isolierten Organ^{1,14,105,111,112} noch in Tierversuchen^{38,52,83} reproduziert werden.

So konnten auch keine wesentlich erhöhten Werte von extrazellulären Katecholaminen im Myokard während der ersten Minuten einer Ischämie bei verschiedenen Spezies wie Ratte, Meerschwein, Kaninchen, Hund oder Schwein gemessen werden¹¹⁶.

Während perkutaner, transluminaler Koronarangioplastik mit totalem Verschluss der linken Arteria coronaria descendens für 30 bis 150 sec. findet man keine signifikante Erhöhung der Noradrenalinkonzentration im Sinus coronarius sowohl während des Verschlusses als auch während der darauf folgenden Reperfusion¹⁰⁹.

3.1.3 Lokale metabolische Noradrenalinfreisetzung

Mit zunehmender Dauer der Ischämie verliert das Myokard seine Fähigkeit sich gegenüber der zunehmenden adrenergen Stimulation zu schützen, da mehr und mehr lokale metabolische Mechanismen in den Vordergrund treten. Diese Art der Freisetzung ist unabhängig von der zentralen Aktivierung sympathischer Nerven und wird erst relevant nach einer Dauer von 10 Minuten totaler Ischämie¹¹¹.

Bei einer lang andauernden Ischämie werden große Mengen an Katecholaminen freigesetzt, so dass innerhalb einer 40-minütigen Ischämie bereits mehr als 30% des gesamten Noradrenalins des Herzens freigesetzt sind. Nimmt man die Freisetzung von Adrenalin und Dopamin zusammen so beträgt diese weniger als 5% der entsprechenden Freisetzung von Noradrenalin¹¹¹.

Diese Noradrenalinfreisetzung ist eine Verteilung des neuronalen Noradrenalin von den Nervenfasern auf andere Gewebekompartimente^{53,54,89}.

Bei einer gleichmäßigen Verteilung des freigesetzten Noradrenalin in den extrazellulären Raum erreicht die extrazelluläre Konzentration des Noradrenalin einen Wert der, 100 bis 1000 mal höher ist als die normale Plasmakonzentration¹⁵⁵.

Weiterhin wird im ischämischen Myokard die adrenerge Stimulation von ischämischen aber noch lebensfähigen Myozyten durch einen 30%igen Anstieg der Zahl funktionell gekoppelter β -Rezeptoren und einer erhöhten Aktivität der Adenylatcyclase innerhalb der ersten 20 Minuten totaler Ischämie erschwert¹³⁷.

Diese schädliche Kombination hoher NoradrenalinKonzentrationen und zeitweiliger gesteigerter Sensitivität des Gewebes für Katecholamine wird für die sich ausbreitende irreversible Zellschädigung verantwortlich gemacht¹³⁷.

3.1.4 Lokale metabolische, nichtexozytotische Noradrenalinfreisetzung während Ischämie und Anoxie

Die Noradrenalinfreisetzung während der frühen Ischämie zeigt bestimmte Merkmale die es möglich machen, diese einem spezifischem Transportmechanismus für den transmembranären Austritt aus der Zelle zuzuordnen. Dieser Transportmechanismus ist als „uptake1 carrier“ identifiziert worden, welcher während der Ischämie seine Transportrichtung umkehrt und so einen carriervermittelten Ausstrom des Noradrenalin aus dem Zytoplasma des Neuron in den extrazellulären Raum ermöglicht. Diese Freisetzung ist kalziumunabhängig¹⁰⁹.

Die inhibitorische Wirkung hoher Konzentrationen organischer Kalziumantagonisten wie Verapamil und Diltiazem auf die ischämieinduzierte Aminfreisetzung, wie sie von Nayler und Sturrock^{92,93} beschrieben wird, ist vollständig unabhängig von extrazellulärem Kalzium und

kann deshalb nicht der kalziumkanalblockierenden Wirkung dieser Substanzen zugeschrieben werden¹⁰⁹.

Die Reduktion der Freisetzung durch Blockade des Uptake-carriers beträgt mehr als 80% bei 30-minütiger Ischämie¹¹¹.

Die Freisetzung kann durch verschieden strukturierte Inhibitoren des neuronalen Uptake wie zum Beispiel Desipramin, Kokain, Oxaprotilin oder Nisoxetin gehemmt werden. Hierbei besteht ein direkter konzentrationsabhängiger Zusammenhang zwischen Freisetzungshemmung und der Uptakeblockade¹¹¹.

Präsynaptische Rezeptoren steuern nicht die Freisetzung von Noradrenalin, und demzufolge hat auch der α_2 -Antagonist Yohimbin, der die exozytotische Freisetzung mehr als verdoppelt, im Fall von ischämieinduzierter Freisetzung keinerlei Wirkung¹¹⁶.

Identische Freisetzungsmechanismen findet man bei der durch Anoxie oder Cyanose-intoxikation induzierten Katecholaminfreisetzung bei gleichzeitigem Fehlen von Glucose^{113,23}.

Dies wiederum zeigt, dass ein gewöhnlicher Freisetzungsmechanismus, ausgelöst durch eine Erschöpfung der Energiereserven am Herz, nicht mit einer exozytotischen Freisetzung vereinbar ist¹⁰⁹.

Weder während der Anoxie⁴⁹ noch in der Ischämie⁴⁰ besteht bei der Noradrenalinfreisetzung ein Zusammenhang mit der Freisetzung des Exozytosemarkers Neuropeptid Y.

Die Freisetzung von Katecholaminen am Herz durch passive Diffusion aus dem Neuron kann bei einer Ischämiedauer bis zu 40 Minuten als unbedeutende Größe betrachtet werden. Daraus geht hervor, dass, wenn die Freisetzung durch Diffusion oder über Membranlecks erfolgen würde, die Hemmung des neuronalen Reuptake nicht in einer verringerten Konzentration der Katecholamine im extrazellulären Raum resultierte. Nur bei lang anhaltender Ischämie kann die Freisetzung durch Diffusion erfolgen, da nach 60-minütiger Ischämiedauer die Hemmung des neuronalen Reuptake nicht länger eine Freisetzung verringert¹⁰⁹.

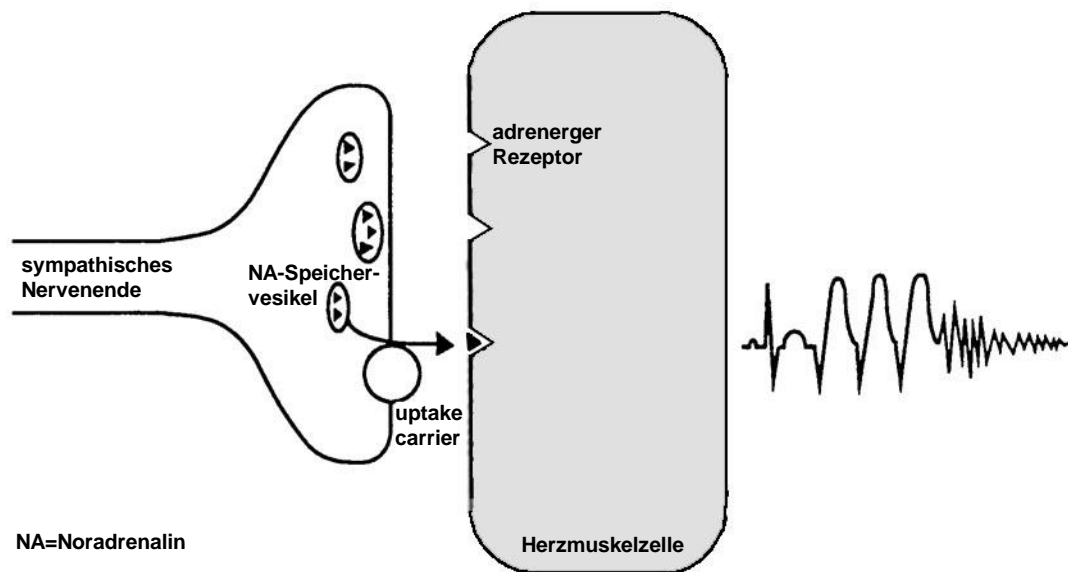


Abbildung 1: Schematische Darstellung der ischämisch induzierten lokal metabolischen Noradrenalin (NA)-Freisetzung im Herzen modifiziert nach Dietz et al.²⁹

3.1.5 Mechanismus der lokalen metabolischen Katecholaminfreisetzung während der Ischämie (s. Abb.1)

Eine negative Energiebilanz, wie sie bei der myokardialen Ischämie der Fall ist, hat eine Katecholaminfreisetzung in zwei Schritten zur Folge^{113,114}. Anfangs entweicht das Noradrenalin aus den Speichervesikeln, was zu einer erhöhten axoplasmatischen Aminkonzentration führt. Im zweiten Schritt wird das Noradrenalin durch die Plasmamembran mit Hilfe des Uptake1 Carrier, der hier entgegengesetzt zu seiner normalen Transportrichtung arbeitet, in den extrazellulären Raum transportiert. Durch die Akkumulation von Protonen innerhalb des Katecholaminspeichervesikels erzeugt die H^+ -ATPase, die in der Vesikelmembran liegt, ein transmembranäres, elektrochemisches H^+ -Potential von annähernd 200 mV. Dieses Potential setzt sich aus dem Membranpotential und dem Protonengradienten zusammen^{10,100,156}.

Der H^+ -Gradient ist die treibende Kraft der vesikulären Noradrenalin Aufnahme und des nach innen gerichteten Amintransports. Gekoppelt ist dies mit einem nach außen gerichteten Protonentransport durch einen spezifischen reserpin-empfindlichen Carrier, der in der Membran der Vesikel liegt^{10,100,156}.

Ein gestörter Energiehaushalt innerhalb des Neurons führt zu einem Verlust des Membranpotentials und einer Freisetzung des Noradrenalin aus den Speichervesikeln ins Axoplasma^{36,145}.

Das Aufrechterhalten der anaeroben Glykolyse ist ausreichend, um eine Entleerung der Vesikel trotz einem Versagen der oxidativen Phosphorylierung zu verhindern¹¹³.

In Anwesenheit von Sauerstoff wird das axoplasmatische Noradrenalin schnell durch Monoaminoxidasen in seinen inaktiven Metaboliten Dihydroxyphenylethylenglycol umgewandelt³⁹, so dass sowohl eine Erschöpfung der Glykolyse als auch eine Hypoxie erforderlich sind, um zu einer verstärkten Akkumulation von Noradrenalin im Axoplasma des sympathischen Neurons zu führen. Steigende Noradrenalinkonzentrationen im Axoplasma reichen nicht aus, um einen Transport des Noradrenalin durch die Membran des Neurons nach außen zu verursachen, da unter normalen Bedingungen der Katecholamintransport über den Uptake-Carrier vom extrazellulären Raum ins Zytoplasma erfolgt. Die Richtung des Cotransports von Katecholaminen mit Natriumionen hängt vom transmembranären Natriumgradienten ab^{45,46,141,147}.

Nur ein Anstieg von intrazellulärem Natrium, der während der frühen Ischämie auftritt^{6,37}, macht einen carriervermittelten Noradrenalinausstrom in den extrazellulären Raum möglich^{45,46,141,147}.

Die Blockade dieses Carriers durch tricyclische Antidepressiva wie Desipramine hemmt sowohl die Aufnahme als auch die Ausschüttung von Katecholaminen und unterdrückt damit effektiv die nichtexozytotische Noradrenalinfreisetzung. Der Anstieg von intrazellulärem Natrium während der myokardialen Ischämie ist sowohl auf das Versagen der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ Aktivität als Folge der energetischen Erschöpfung als auch auf den zunehmenden Einstrom von Natrium zurück zu führen. Der Natrium-Protonen-Austausch ist der vorherrschende Mechanismus für den Natriumeinstrom in das sympathische Neuron während der Ischämie. Dieses carriervermittelte Transportsystem spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation des intrazellulären pH-Werts und wird vor allem durch intrazelluläre Azidose aktiviert^{3,70}.

Der Protonenaustritt aus der Zelle ist mit einem Natriumeintritt gekoppelt und führt so zu einer intrazellulären Natriumakkumulation vor allem bei einer verringerten Aktivität der $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$. Eine Hemmung des Natrium-Protonen-Austauschs durch Amiloride und noch spezifischer durch Ethylisopropylamilorid¹⁵³ reduziert deutlich die ischämieinduzierte Noradrenalinfreisetzung¹¹⁴.

3.2 Ischämieinduzierte Arrhythmien

3.2.1 Erhöhte Empfindlichkeit des ischämischen Myokards auf adrenerge Stimulation

Die Wirkung der Katecholamine am Herz wird durch die Aktivierung von myokardialen adrenergen Rezeptoren vermittelt. Beim gesunden Herz haben die adrenergen Rezeptoren die Aufgabe die Herzkontraktion und Erregbarkeit zu regulieren. Während der akuten myokardialen Ischämie ist die Empfindlichkeit der adrenergen Rezeptoren auf eine Stimulation durch Katecholamine erhöht, so dass angenommen wird, dass diese ischämieinduzierte erhöhte Sensitivität der Rezeptoren eine wichtige Rolle für das Auftreten von ventrikulären Arrhythmien, Zellschäden an den Kardiomyozyten und die Ausdehnung von Infarktbezirken spielen¹⁰⁹.

Basierend auf pharmakologischen Kriterien können die adrenergen Rezeptoren in α - und β -adrenerge Subtypen unterschieden werden. Weiterführende Untersuchungen ergaben, dass zusätzliche Untergruppen sowohl für α - als auch für β -adrenerge Rezeptoren existieren^{98,87}.

Heute kennt man vier α_1 -Rezeptor-Subtypen, drei α_2 -Rezeptor-Subtypen und drei β -Rezeptor-Subtypen. Diese adrenergen Rezeptor-Subtypen existieren in einer Vielfalt von Zuständen und können intrazellulär gesteuert sowohl zu einer Sensibilisierung als auch einer Desensibilisierung der Rezeptoren führen¹²⁸.

3.2.1.1 β -adrenerge Rezeptoren und die Adenylatcyclase-Aktivität während der akuten myokardialen Ischämie.

Die große Menge Katecholamine, die während der akuten Ischämie lokal freigesetzt wird, reicht aus, um am normalen Herz zu einer Desensibilisierung des β -adrenergen Systems zu führen¹³⁹. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass es während der myokardialen Ischämie zu einer Erhöhung der Anzahl der β -adrenergen Rezeptoren kommt. Diese erhöhte Dichte von β -adrenergen Rezeptoren wurde als erstes von Mukherjee⁸⁸ in Experimenten am Hund beschrieben. Bei diesem Experiment verursachte ein einstündiger Verschluss der Arteria coronaria sinister einen Anstieg der Zahl der β -adrenergen Rezeptoren im myokardialen Gewebe um 80%.

Der durch die Ischämie verursachte Anstieg der β -adrenergen Rezeptoren erfolgt sehr schnell und wird durch eine darauffolgende Reperfusion ebenso schnell wieder aufgehoben. Am isolierten Rattenherz führt bereits eine 15-minütige globale Ischämie zu einer erhöhten Rezeptorendichte, die nach 30 und nach 50 Minuten nochmals ansteigt. Eine anschließende 25-minütige Reperfusion reicht aus, um die Rezeptorendichte wieder zu normalisieren¹³⁸.

Diese kurzen Zeitintervalle machen deutlich, dass die Erhöhung der Rezeptorendichte auf der Zelloberfläche nicht auf eine Neusynthese der Rezeptoren zurückzuführen ist. Unter physiologischen Bedingungen konnten am Herz von Meerschweinchen ungefähr 50% der β -adrenergen Rezeptoren in der isolierten Plasmamembran lokalisiert werden. Die übrigen β -adrenergen Rezeptoren befinden sich in einem intrazellulären Pool, wo sie nicht an eine Adenylatcyclase gekoppelt sind und deshalb nicht hormonell gesteuert werden können. Die Erhöhung der Rezeptorendichte in der Plasmamembran erfolgt auf Kosten des intrazellulären Pools^{76,77}.

Während der myokardialen Ischämie können Veränderungen der Adenylatcyclaseaktivität beobachtet werden. Ausgedehnte Perioden myokardialer Ischämie führen zu einem stufenweisen Anstieg der Ansprechbarkeit der Adenylatcyclase auf β -adrenerge Stimulation. Trotz einer Zunahme der β -adrenergen Rezeptoren nach 1 bis 5 Stunden regionaler myokardialer Ischämie ist der Anstieg der Rezeptorbindungsstellen stets von einer sinkenden Aktivität der Adenylatcyclase begleitet. Das ist ein Zeichen für die funktionelle Unabhängigkeit der β -adrenergen Rezeptoren von dem, unter normoxischen Bedingungen, daran gekoppelten Adenylatcyclasekomplex während der myokardialen Ischämie^{28,41,148,149}.

Bei In-vitro-Versuchen mit globaler Ischämie zeigt sich diese sinkende Aktivität der Adenylatcyclase bereits nach 30 Minuten¹³⁷.

Noch ist der molekulare Mechanismus, der zu einem Absinken der Adenylatcyclaseaktivität während der myokardialen Ischämie führt, nicht vollständig bekannt. Eine Erschöpfung der Energiereserven des Herzens kann nicht allein dafür verantwortlich gemacht werden, da eine Hemmung des Energiemetabolismus am Rattenherz durch Perfusion mit Cyanid nicht zu einem Abfall der Adenylatcyclaseaktivität führt¹³⁷.

3.2.1.2 Erhöhte Dichte und vermehrte Kopplung/Verschaltung von α_1 -adrenergen Rezeptoren am Herz

Obwohl α_1 -adrenerge Rezeptoren in kardialen Geweben einer von vielen verschiedenen Spezies^{17,34} einschliesslich des Menschen¹¹⁷ vorkommen, sind ihre Effekte auf inotrope und elektrophysiologische Parameter beim normalen Herz gering^{19,117}.

Unter physiologischen Bedingungen wird die Wirkung der Katecholamine auf das Herz vor allem über die β -adrenerge Rezeptoren vermittelt. Verschiedene Experimente haben gezeigt, dass die α_1 -adrenerge Sensitivität innerhalb des Myokards während der akuten Ischämie ansteigt und signifikant zum arrhythmogenen Effekt der Katecholamine beiträgt¹⁹. Die erhöhte α_1 -adrenerge Sensitivität während der myokardialen Ischämie ist sowohl eine Folge der erhöhten Rezeptordichte als auch die einer veränderten Verschaltung der Rezeptoren durch “second messengers“ durch biochemische Prozesse während der Ischämie¹⁰⁹. 1989 zeigten Corr et al.¹⁸, dass sich innerhalb einer 30-minütigen myokardialen Ischämie in vivo bei der Katze die Zahl der α_1 -adrenergen Rezeptoren verdoppelt und nach 15 Minuten anhaltender Reperfusion wieder normalisiert. Der rasche Anstieg der α_1 -adrenergen Rezeptoren schließt eine Neusynthese aus und spricht für eine Positionierung von bereits zuvor synthetisierten Rezeptoren an der Membranoberfläche der Myozyten. Der Mechanismus, der diesem Vorgang bei den α_1 -adrenergen Rezeptoren zugrunde liegt, ist keine Umverteilung aus einem intrazellulären Pool wie bei den β -adrenergen Rezeptoren. Denn obwohl die Dichte der α_1 -adrenergen Rezeptoren im Sarkolemm während einer myokardialen Ischämie deutlich ansteigt, bleibt die Dichte in den intrazellulären leichten Vesikeln unverändert⁷⁷.

Dies zeigt, dass die Dichteänderung der sarkolemmalen α_1 -adrenergen Rezeptoren nicht durch Translokation zustande kommt⁷⁷.

Die Akkumulation von langkettigen Acylcarnitiden scheint ein wichtiger Mechanismus für den Anstieg der Zahl der β -adrenergen Rezeptoren bei der Ischämie zu sein. Bei isolierten Myozyten vom Hund verursacht eine 10-minütige Hypoxie einen deutlichen Anstieg der langkettigen zellulären Acylcarnitiden. Analog wurde dieser Anstieg ebenfalls in vivo nach 5-minütiger Ischämie gezeigt^{16,48}.

Der Anstieg der langkettigen Acylcarnitiden ist reversibel und mit Verdoppelung bis Verdreifachung der α_1 -adrenergen Rezeptordichte an der Oberfläche der Myozyten⁵⁰ assoziiert.

Die Hemmung der Carnitinacyltransferase 1 (CAT 1) durch Natrium 2-[5-(4-chlorophenyl)pentyl]-oxirane-2-carboxylat (POCA) verhindert nicht nur die Akkumulation der langkettigen Acylcarnitiden im Sarkolemm sondern auch den Anstieg der α_1 -adrenergen Rezeptoren bei einer Hypoxie. Dies zeigt, dass Membranstörungen, verursacht durch das Eindringen langkettiger Acylcarnitide, zu einer Exposition von latenten, zuvor noch maskierten α_1 -adrenergen Rezeptoren führt⁵⁰.

Der zelluläre Mechanismus, der für eine erhöhte α_1 -adrenerge Sensitivität im ischämischen Myokard verantwortlich ist, liegt nicht nur an einer erhöhten Dichte der Rezeptoren, sondern auch an deren Verschaltung untereinander. Myokardiale α_1 -adrenerge Rezeptoren sind an die Phospholipase C gekoppelt, die, wenn aktiviert, die Hydrolyse von Phosphatidylinositol (PIP₂) zu Inositol-1,4,5-trisphosphat (IP₃) und 1,2-diacylglycerol katalysiert. Die durch die Aktivierung der Phospholipase C gesteuerte Produktion von Inositolphosphat als Folge von α_1 -adrenerger Stimulation ist in einer Vielzahl von kardialen Geweben und bei verschiedenen Spezies nachgewiesen worden^{34,51,65}.

Bei normoxischen Myozyten führt eine Stimulation der α_1 -adrenergen Rezeptoren durch Noradrenalin zu einem vier- bis fünffachen Anstieg von Inositoltriphosphat innerhalb von 30 sec. Nach 10 Minuten Hypoxie, einem Zeitintervall in dem die Zahl der α_1 -adrenergen Rezeptoren um das Doppelte bis Dreifache ansteigt⁵⁰, war die Noradrenalinkonzentration, um einen 50%igen Anstieg an IP₃ zu erhalten, sechsmal geringer während einer Hypoxie als bei normoxischen Myozyten. Die Tatsache, dass die Schwelle für einen Anstieg von IP₃ während der Hypoxie schon bei einer 100-mal geringeren Konzentration von Noradrenalin erreicht wird, wohingegen die Rezeptordichte nur um das zwei- bis dreifache ansteigt, spricht sowohl für eine Kopplung der Rezeptoren mit der Phospholipase C als auch für einen unabhängigen Anstieg der Rezeptorzahl¹⁰⁹.

3.2.2 Arrhythmogene Wirkung der adrenergen Stimulation auf das ischämische Myokard

Die ersten Hinweise, dass adrenerge Aktivität eine kritische Rolle bei der Genese maligner ventrikulärer Arrhythmien während der frühen Phase der myokardialen Ischämie spielt, lieferten Experimente, in denen chirurgisch die sympathische Aktivität am Herz während des akuten Myokardinfarktes verringert wurde. Bei Experimenten mit chirurgischer sympathischer

Denervation zeigt sich, dass eine dauerhafte sympathische Denervierung des Herzens, 2 bis 4 Wochen vor einem Koronarverschluss die Gefahr des Auftretens von Kammerflimmern deutlich verringert. Eine akute sympathische Denervierung, wie das Modell des akuten Infarktes am Kaninchenherz zeigt, führt jedoch nicht zu einer Senkung der Inzidenz von Kammerflimmern³².

So bestimmt die Dauer der sympathischen Denervation vor einem Koronarverschluss das Ausmass der ischämischen Myokardnekrose. Bei einer akuten Denervierung wird das Ausmaß der Nekrose um 25%, bei einer chronischen Denervierung hingegen um 90% gesenkt. Dies erklärt sich aus der Tatsache, dass eine chronische Denervierung zu einer beinahe totalen Entleerung der myokardialen Katecholamine am Herz führt, wohingegen eine akute neurale Amputation wenige Minuten vor einer Ischämie die Noradrenalkonzentration nur um 9% reduziert. Eine akute sympathische Denervierung verhindert also nur die durch zentrale Sympathikusstimulation ausgelöste Noradrenalinfreisetzung, nicht aber eine durch lokale metabolische Prozesse induzierte Noradrenalinfreisetzung. Nach einer chronischen Denervierung ist das Herz vor jeder Art der Katecholaminfreisetzung geschützt. Das zeigt, dass die ischämieinduzierte lokale Noradrenalinfreisetzung eine Schlüsselrolle sowohl bei der Entstehung von Kammerflimmern als auch für das Ausmaß von Myokardnekrosen nach einem akuten Myokardinfarkt einnimmt³².

Eine andere Tatsache, welche die Rolle des sympatho-adrenergen Systems bei der Pathogenese der Arrhythmien unterstreicht, ist die Möglichkeit durch verschiedene Pharmaka den adrenergen Einfluss auf das Herz während der Ischämie zu blockieren. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen nach chirurgischer Denervierung führt eine pharmakologische Depletion der myokardialen Katecholamine durch fortwährende Applikation von 6-Hydroxydopamin zu einem signifikanten Rückgang der ischämieinduzierten ventrikulären Tachyarrhythmien bei verschiedenen in-vivo-Modellen des Myokardinfarkts²².

Vergleichbare Ergebnisse liefern Versuche am isolierten Rattenherz, die mit 6-Hydroxydopamin vorbehandelt sind^{26,29}.

Der arrhythmogene Einfluss der lokalen Noradrenalinfreisetzung wird durch Experimente, in denen "Uptake1"-Inhibitoren verwendet werden, um die ischämieinduzierte nichtexozytotische Noradrenalinfreisetzung zu blockieren, untermauert. "Uptake1"-Inhibitoren wie Desipramin, Nisoxetin und Amitryptilin verringern deutlich das Auftreten von Kammerflimmern nach Verschluss der Koronararterie am perfundierten Ratten- und Hundeherz^{26,29}.

Die Konzentrationen, in denen die "Uptake1"-Blocker einen signifikanten antifibrillatorischen Effekt zeigen und zu einer signifikanten Reduktion der Noradrenalinfreisetzung führen, liegen im selben Bereich. Desipramin das potenteste antifibrillatorische Agens, hat keinerlei elektrophysiologische Eigenschaften in den getesteten Konzentrationen während der lokalen myokardialen Ischämie. Die gleiche Desipraminkonzentration, die während der myokardialen Ischämie antifibrillatorische Wirkung besitzt, erhöht die Inzidenz für Kammerflimmern signifikant, wenn die Arrhythmien durch Perfusion mit exogenem Noradrenalin unter normoxischen Bedingungen erzeugt werden. In diesem Fall ist die lokale Konzentration der Katecholamine im Zwischenzellspalt nach Zugabe von Desipramin erhöht, da es zu einer Blockade des Uptake1 kommt. Dies bedeutet eine Blockade der bevorzugten Elimination von Noradrenalin, dem neuronalen Uptake¹⁰⁹.

Die lokale metabolische Noradrenalinfreisetzung ist ein wichtiger Faktor bei der Genese von malignen Tachyarrhythmien im akuten ischämischen Myokard und wird noch gestützt durch den antifibrillatorischen Effekt, den die Inhibitoren des Natrium-Protonen-Austauschs besitzen. Amilorid und seine Derivate Ethylisopropylamilorid und Dimethylamilorid senken signifikant die Inzidenz von ischämieinduziertem Kammerflimmern am Rattenherz mit derselben Konzentration, mit der sie auch die lokale metabolische Noradrenalinkonzentration unterdrücken¹¹⁰. Weitere antiarrhythmische Effekte des Amilorid zeigten sich während der Postinfarktphase beim Kaninchen³⁰ und bei einer kleinen Gruppe von Patienten, die an ventrikulären Arrhythmien litten, die sich konservativen Therapien gegenüber resistent erwiesen³¹.

Auf der postsynaptischen Seite kommt es durch die während der myokardialen Ischämie freigesetzten Katecholamine zu Stimulation der α - und β -adrenergen Rezeptoren der Myozyten. Eine Blockade der β -adrenergen Rezeptoren während der myokardialen Ischämie hat einen antiarrhythmischen Effekt, wie klinische und tierexperimentelle Ergebnisse zeigen. Eine Vielzahl experimenteller Studien der akuten myokardialen Ischämie zeigten, dass Substanzen, die die β -adrenergen Rezeptoren blockieren die Inzidenz von Kammerflimmern senken¹²⁰. Des Weiteren haben eine große Anzahl klinischer Studien gezeigt, dass sich durch β -adrenerge Blockade die Häufigkeit für den plötzlichen Herztod bei Patienten mit initialem Myokardinfarkt senken ließ¹⁵⁸. Da der antiarrhythmische Effekt der β -adrenergen Blockade während der myokardialen Ischämie variiert, sind Interventionen, die zu einer Depletion der myokardialen Katecholamine führen oder deren Freisetzung verhindern, weitaus effektiver. Hier gewinnt die Rolle der α -adrenergen Stimulation während der myokardialen Ischämie an

Bedeutung. Der antiarrhythmische Effekt durch α -adrenerge Blockade während der myokardialen Ischämie und Reperfusion wurde an vielen Spezies gezeigt^{17,21}. Das reduzierte Auftreten von ventrikulären Tachykardien und/oder Kammerflimmern durch α -adrenerge Blockade scheint unabhängig von Veränderungen der systemischen Hämodynamik oder des koronaren Blutflusses zu sein und macht einen direkten Einfluss der Katecholamine auf die α -adrenergen Rezeptoren wahrscheinlich¹²⁴.

Andererseits zeigte sich, dass der α -Agonist Methoxamin die Inzidenz von ventrikulären Tachykardien und Kammerflimmern während der myokardialen Ischämie und der Reperfusion am isoliert perfundierten Herz von Meerschweinchen, die katecholamindepletiert waren, signifikant erhöhte. Dieser Effekt konnte durch Phentolamin blockiert werden, jedoch nicht durch Blockade der β -adrenergen- oder Histamin₂-Rezeptoren²¹.

Neben diesen direkten elektrophysiologischen Effekten erleichtert die Sympathoadrenerge Stimulation bei Herzinfarkt indirekt durch eine Steigerung der Herzfrequenz eine Ausweitung des ischämischen Areals sowie durch Elektrolytveränderungen das Auftreten von Rhythmusstörungen.¹⁵¹

Diese Inhomogenität der elektrischen Kontraktion zwischen den myokardialen Zellen kann für die erhöhte Verwundbarkeit des ischämischen Myokards gegenüber "Reentry-Arrhythmien" verantwortlich sein¹⁰⁹.

4 Eigene Untersuchungen

4.1 Zielsetzungen

Ischämische Präkonditionierung schützt myokardiale Gewebe in einer anschließenden und länger anhaltenden ischämischen Periode. Dies wurde schon in bezug auf die Infarktgröße^{72,70}, die ischämie-^{72,150} und reperfusioninduzierten^{125,146} malignen Arrhythmien, post ischämischen myokardialen Funktionsstörungen^{4,7} und Azidität während der andauernden ischämischen Periode^{4,136} am Rattenherz demonstriert. Neben dem Schutz des myokardialen Gewebes, reduziert die Präkonditionierung Noradrenalinfreisetzung¹²² und –umsatz¹⁴² während anhaltender Ischämie. Der Mechanismus, der das neurale und das myokardiale Gewebe des Rattenherzens schützt, mag unterschiedlich sein, da die bisher für den Schutz des Myokards angenommenen Mechanismen, wie die Aktivierung der α_1 -Rezeptoren und der Proteinkinase C nicht eine Reduktion der Noradrenalinfreisetzung durch Präkonditionierung zu erklären vermochten¹²². So könnte die Veränderung der Ionenverteilung, wie sie bei einer kurzzeitigen Ischämie der Fall ist, helfen, die geringere Noradrenalinfreisetzung während einer andauernden Ischämieperiode zu erklären, da die ischämieinduzierte, lokale Noradrenalinfreisetzung von metabolischen Veränderungen während der Ischämie abhängig ist^{111,114}. Eine Reduktion der Azidität während anhaltender Ischämie für das Herz als Ganzes^{4,62,136} und die Aktivierung pH-regulierender Transportsysteme wurde bereits als Mechanismus für möglich erachtet¹⁰¹.

Aus diesem Grund befasst sich die vorliegende Arbeit mit der Frage, ob der zugrunde liegende Mechanismus der ischämischen Präkonditionierung von einem Aufbau eines transmembranären Protonengradienten während der ischämischen Präkonditionierung abhängig ist. Zusätzlich soll geklärt werden, in welchem Zusammenhang der Schutz des neuralen und myokardialen Gewebes zur ischämieinduzierten Noradrenalinfreisetzung und zum Kammerflimmern steht. Die Untersuchungen sollen ex-vivo am Langendorffherzmodell durchgeführt werden.

4.2 Material und Methoden

4.2.1 Versuchstiere

Männliche Wistar-Ratten werden spezifiziert pathogenfrei aufgezogen und bei einer Raumtemperatur von 20° bis 22°C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von 50 bis-60%, einem 15-fachen Luftwechsel pro Stunde und bei einem Hell-Dunkel Rhythmus von jeweils 12 Stunden gehalten. Bis zum Beginn der Versuche erhalten die Ratten eine Standard-Pellet-Diät (Altromin 1324) und Wasser ad libitum. Die Tierhaltung findet in Käfigen zu 4 bis 6 Tieren statt. Die Käfige haben eine Größe von 38,5 x 59 x 20cm und sind mit Weichholzspänen vom Typ HW 300/500 eingestreut.

Die Tiere werden in ihrer Ruhephase (später Vormittag oder am Nachmittag) zu den Versuchen herangezogen. Sie wiegen 200 bis 280 g, was einem Alter von 45 bis 55 Tagen entspricht.

Für die vorliegende Untersuchung wurden insgesamt 104 Rattenherzen benötigt.

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß §8a des Deutschen Tierschutzgesetzes bei der Regierung von Oberbayern angezeigt.

4.2.2 Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne vorhergehender ischämischer Präkonditionierung

4.2.2.1 Experimentelles Vorgehen

4.2.2.1.1 Versuchsprotokoll

In der Versuchsreihe 1 (s. Abb.2 u.Tab. 1) werden 34 untersuchte Herzen, die im Verlauf des Protokolls einer Präkonditionierung (erzeugt durch globale Ischämie) bei neutraler Zwischenperfusion durchlaufen, den 29 Herzen der Kontrollgruppe gegenübergestellt, die im Verlauf des Protokolls keiner Präkonditionierung unterliegen. Diese Präkonditionierung wird durch eine globale Ischämie hervorgerufen, die wiederum durch einen kompletten Perfusionsstop am Herzen erzeugt wird.

Der Kontrollgruppe wird in den Versuchsreihen 2 (s.Abb.6) und 3 (s.Abb.7) je einer Gruppe präkonditionierter Herzen mit azidotischer (n=12) bzw. einer mit alkalischer(n=14) Zwischenperfusion gegenübergestellt.

15 Herzen können aufgrund der in 4.2.2.3 beschriebenen Kriterien nicht berücksichtigt werden.

Tabelle 1: Versuchprotokolle zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne Präkonditionierung (n = Anzahl der Herzen)

Versuchsreihe	n=	Versuchsprotokoll
1 Neut+P	34	Präkonditionierung bei neutraler Zwischenperfusion
2 Azid+P	12	Präkonditionierung bei azidotischer Zwischenperfusion
3 Alk+P	14	Präkonditionierung bei alkalischer Zwischenperfusion
Kontrolle	29	ohne Präkonditionierung

Zwischen dem Beginn der isolierten Perfusion der Herzen und dem Zeitpunkt der Koronarligatur liegt ein Zeitraum von 50 min. 20 min benötigt man zur Stabilisierung der Herzaktion und für die Präkonditionierungsphase (3x5 min globale Ischämie, jeweils von 5 min normaler Perfusion gefolgt). Diesen präkonditionierten Gruppen steht eine Kontrollgruppe gegenüber, die in der selben Zeit ohne Unterbrechung perfundiert wird.

Danach okkludiert man die Koronararterie für die Dauer von 30 min und eröffnet sie wieder für eine fünfminütige Reperfusionphase.

Über den kompletten Zeitraum des Versuches wird der Perfusionsdruck und das EKG eines jeden Herzens kontinuierlich aufgezeichnet.

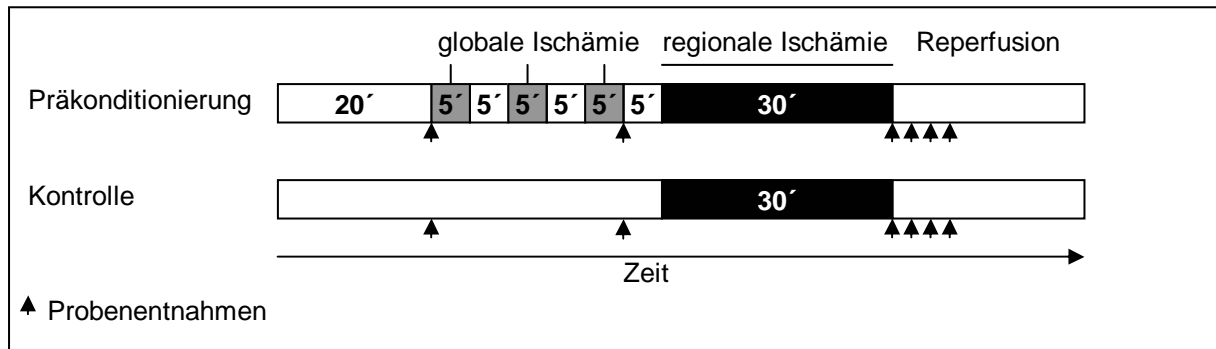


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Versuchprotokolls zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien erzeugt durch regionale Ischämie (30 minütige Ligatur der LAD) mit und ohne Präkonditionierung (3 Perioden 5 minütiger globaler Ischämie)

4.2.2.1.2 Präparation der Herzen

Die Ratten werden mit Thiopental (100mg/kg, Trapanal®) intraperitoneal narkotisiert. Nach Eröffnung der Peritonealhöhle injiziert man 0,2 ml Heparin (1000 I.E.) in die Vena cava. Zehn Sekunden danach wird rasch mit einem Schnitt das Diaphragma transversal eröffnet und mit zwei weiteren Schnitten der Thorax transcostal jeweils rechts und links in der Axillarlinie eröffnet. Die Thoraxorgane werden angehoben, mit einem Schnitt entlang der Wirbelsäule abgetrennt und sofort in eisgekühlte Krebs-Henseleit-Lösung getaucht. Während die Herzaktion in der kalten Lösung schnell zum Stillstand kommt, erfolgt unverzüglich durch Entfernung des Thymus die Präparation des Aortenbogens. Dadurch kann man eine Kanüle zur Koronarperfusion nach Langendorff⁶⁸ bis in die Aorta ascendens schieben, und dort mit einer Fadenschlaufe fixieren. Während die Herzaktion unter flusskonstanter Perfusion mit warmer (37,5°C) Krebs-Henseleit-Lösung wieder einsetzt, entfernt man das verbliebene Mediastinum und die Lungen. Zur Druckentlastung des rechten Ventrikels wird die Arteria pulmonalis an ihrer Austrittsstelle durch einen kleinen Einschnitt eröffnet.

Durch diese Präparation kann man das perfusionsfreie Intervall auf weniger als 30 s reduzieren, während zusätzlich die Stoffwechselaktivität durch Kühlung erniedrigt wird. Es werden jeweils vier Herzen gleichzeitig untersucht und im Abstand von je zwei Minuten kanüliert.

4.2.2.1.3 Koronarligatur

Zur Induktion einer lokalen Ischämie am isolierten Rattenherzen wird eine Koronarligatur mit einer atraumatischen Naht gelegt (Ethicon Ethibond Faden 1 metric, Nadel C-1). Der Einstich erfolgt unter dem linken Herzohr, der Ausstich in einer leicht aufsteigenden Linie in 2 bis 3 mm Abstand in der Mitte des Abgangsbereichs der Arteria pulmonalis⁶⁰.

Bei diesem Vorgehen wird der proximale Anteil der linken Koronararterie ligiert. Durch Einlegen eines weichen PVC-Röhrchens (Polythene Tubing, Außendurchmesser 1,27 mm) in die Ligaturschleife wird das gewebeschonende Schließen und Wiedereröffnen der Gefäß-okklusion ermöglicht⁷⁵.

4.2.2.1.4 Ischämiegrößenbestimmung

Bei einem Teil der Experimente wird die Ischämiegröße nach 30 min Koronargefäßokklusion durch Intravitalfärbung mit Evans-Blue abgeschätzt¹⁵⁴. Bei einigen Experimenten werden dazu die Gefäßokklusion durch isoliertes Herausschneiden des PVC-Röhrchens unter Belassen der Ligaturschleife so eröffnet, dass nach vorübergehender Reperfusion (5 min) das Koronargefäß durch ein angespitztes Stäbchen, das vorsichtig in die Ligaturschleife eingespannt wird, wieder verschlossen werden kann. Bei einigen anderen Experimenten wird die Gefäßligatur nach 30 min nicht geöffnet.

Unter diesen Protokollvorgaben genügt eine Perfusion des nicht okkludierten Koronararteriengebietes über 5 min Evans-Blue-Lösung (0,1%), um eine makroskopisch klare Abgrenzung des nicht perfundierten Gebietes zu erzielen. Anhand dieser Markierung kann mit einer feinen Schere das nichtgefärbte, ischämische Areal aus dem Herzen herausgetrennt werden. Vom gefärbten Gewebe werden die Vorhöfe abgetrennt und nach Abtupfen des gefärbten und ungefärbten Gewebeanteils beide Teile gewogen. Dadurch kann der relative Ischämiegrößenanteil am gesamten Ventrikelgewebe angegeben werden. Für die Verwendung der einfachen Vitalfärbungsmethode zur Ischämiegrößenbestimmung spricht die Tatsache, dass das Rattenherz nur einen geringen koronaren Kollateralfluss besitzt⁸¹.

4.2.2.2 Versuchsaapparatur (s. Abb. 3)

Die Versuchsanlage ist mit 4 Perfusionskanälen ausgestattet, die in Edelstahlröhrchen enden, an welche die Aorta ascendens der vier Herzen im Versuch kanüliert werden. Bis auf wenige Minuten, die man zum Legen bzw. Lösen der Ligatur benötigt, befinden sich die Herzen in temperierten Glaskammern ($37,5\pm$). Des Weiteren schützt eine Raumtemperatur von $30 \pm 1^\circ\text{C}$ die Herzen während der Manipulation vor Auskühlung.

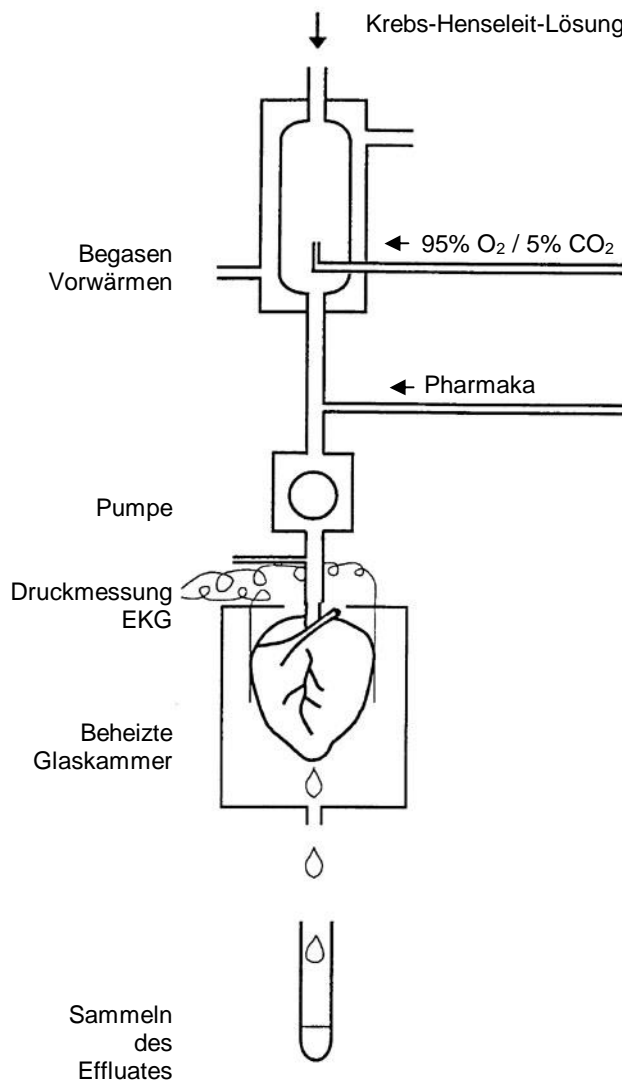


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Versuchsanlage nach Langendorff

Zur Aufzeichnung eines bipolaren, epikardialen Elektrokardiogramms werden zwei breitflächige Stahlelektroden zu beiden Seiten des Herzens angebracht. Die elektrischen Signale werden über einen Hellige-19-Vorverstärker (Hellige GmbH, Freiburg) modifiziert, simultan auf einem Hellige Monitor (Hellige GmbH, Freiburg) aufgezeigt und mit einem SAN-EI Recti-Horiz 8-Kanal-Thermoschreiber (NEC San-ei Instruments, Tokyo) aufgezeichnet (s. Abb.4).

Der Krebs-Henseleit-Puffer wird in einer temperierten Säule (42°C) mit einem Gemisch aus 95% O₂ und 5% CO₂ begast, und der pH-Wert mit Begasungsvariation auf 7,40 eingestellt.

Die Herzen werden durch eine mehrkanalige Rotationspumpe (Watson-Marlow Bredel Pumps Limited, Cornwall, England) mit einem konstanten Fluss perfundiert. Zur Aufrechterhaltung einer konstanten Temperatur des Perfusats wird direkt vor dem Auslaufen zum Herzen eine stufenlos regulierbare Heizwicklung eingeschaltet.

Der Perfusionsdruck eines jeden Herzens wird hierbei kontinuierlich mit Hilfe eines STATHAM-P23 ID-DRUCKTRANSDUCER (Statham Instruments, Inc. Los Angeles) sowie eines Brückenverstärkers SANCARR-6 (NEC San-ei Instruments, Tokyo) registriert und auf dem 8-Kanalschreiber parallel zum EKG aufgezeichnet.

Über alle Versuche hinweg lassen sich dadurch Schwankungen der Messparameter des Perfusats am Auslauf aller Perfusionskanülen vor und nach dem Anbinden der Herzen auf das folgende Ausmaß begrenzen:

Fluss.....10,0 ± 0,1 ml min⁻¹

Temperatur.....37,5 ± 0,4°C

pH-Wert.....7,40±0,05

pO₂.....240-300 mmHg

pCO₂.....25-30 mmHg

Eine noch weitergehendere Vergleichbarkeit der Experimente wird dadurch erzielt, dass Kontroll- und Praekonditionierungsherzen immer zeitgleich und unter gleichen Bedingungen an je 2 Kanälen beobachtet werden, so dass die physikalischen Perfusatwerte innerhalb der Teilexperimente wesentlich weniger streuen. Außerdem werden dadurch auch andere, zum Teil weniger kontrollierbare Störgrößen (Rattenernährungszustand, Alter der Ratten, Tageszeit, Jahreszeit, Luftfeuchtigkeit usw.) in ihrem Einfluss auf den statistischen Vergleich zwischen den beiden Gruppen minimiert.

4.2.2.3 Auswertungskriterien

4.2.2.3.1 Elektrokardiogramm (EKG)

Die breitflächige epikardiale, bipolare Ableitung des EKGs ermöglicht eine eindeutig abgrenzbare Aufzeichnung des Kammerkomplexes. P-Wellen und T-Wellen sind aufgrund der einkanalen Ableitung nur inkonstant darzustellen.

Es werden nur Herzen in die Untersuchung eingeschlossen, die in einem Beobachtungszeitraum von 12 min vor Koronarligatur eine spontane Herzfrequenz zwischen $170\text{--}290\text{ min}^{-1}$ haben. Das trifft für mehr als 90% der Herzen zu.

Das Auftreten folgender Rhythmusstörungen vor Koronarligatur führt zum Ausschluss der Herzen vom Experiment:

- ein AV-Block oder eine Blockierung anderer Art, wenn dabei die Frequenz von 170 min^{-1} unterschritten wird oder wenn ein Arrest (Pause) über 1 Sekunde dauert
- mehr als 3 ventrikuläre Extrasystolen pro Minute
- mehr als ein ventrikuläres Couplet (direkte Folge zweier ventrikulärer Extrasystolen) pro Minute
- eine ventrikuläre Salve (direkte Folge von mehr als 3 ventrikulären Extrasystolen) mit mehr als 3 Kammerkomplexen

Diese Kriterien sind aus Voruntersuchungen abgeleitet, die zeigten, dass Herzen mit den geschilderten Rhythmusstörungen vor Koronarligatur ein verändertes Arrhythmieverhalten während der Ischämie aufwiesen. So zeigten Herzen mit gehäuften Extrasystolen oder Tachykardien ein verstärktes und verfrühtes Auftreten von ischämieinduzierten Arrhythmien. Andererseits zeigen Herzen mit gehäuften AV-Blöcken ein abgeschwächtes und verzögertes Auftreten von ischämieinduzierten Arrhythmien.

Supraventrikuläre Tachyarrhythmien sind sehr selten und erreichen nicht Frequenzen über 400 min^{-1} . Zur Abgrenzung ventrikulärer Arrhythmien gegenüber supraventrikulären Arrhythmien muss deshalb eine Frequenz größer als 400 min^{-1} und eine Formänderung des Kammerkomplexes im EKG nachzuweisen sein.

Aufgrund zahlreicher Vorversuche, die zur Untersuchung des Frequenzverhaltens während der Ischämiephase dienten, werden die auftretenden ventrikulären Tachyarrhythmien wie folgt in 2 Schweregrade unterteilt:

A. Ventrikuläre Tachykardien und Kammerflattern mit Frequenzen über 400 min⁻¹ (VT).

Diese Tachyarrhythmien (s. Abb.4, Kanal 2) werden definiert als schnelle monomorphe Kammeraktionen mit gleichbleibender oder undulierender Amplitude und noch voneinander abgrenzbaren QRS-Komplexen, wobei nur Phasen mit mehr als 10 Aktionen berücksichtigt werden

B. Kammerflimmern (VF).

Diese Rhythmusstörung (s.Abb. 4, Kanal 1 und 3) wird definiert als hochfrequente (>1000 min⁻¹), polymorphe, elektrische Aktivität mit nicht mehr voneinander abgrenzbaren wechselnden Oszillationen und Intervallen. Diese Veränderungen müssen über eine Sekunde andauern, um als VF gewertet zu werden.

Alle Herzen, bei denen zuerst auch nur für Bruchteile von Sekunden solch eine für Kammerflimmern charakteristische, chaotische elektrische Aktivität auftritt, zeigen während 30 Minuten lokaler Ischämie ausnahmslos Kammerflimmern von mindestens einigen Sekunden. Das gilt sowohl für Herzen der Kontrollgruppe, als auch für alle Herzen der 'preconditioning'-Gruppen. Dieses Verhalten ermöglicht eine klare Abgrenzung von Herzen mit nur hochfrequenten Tachykardien von solchen mit Kammerflimmern. Die Festlegung des Kriteriums für VF auf die Dauer einer Sekunde beeinflusst somit den Zeitpunkt der erstmaligen Dokumentation von VF, nicht aber die absolute Inzidenz von VF.

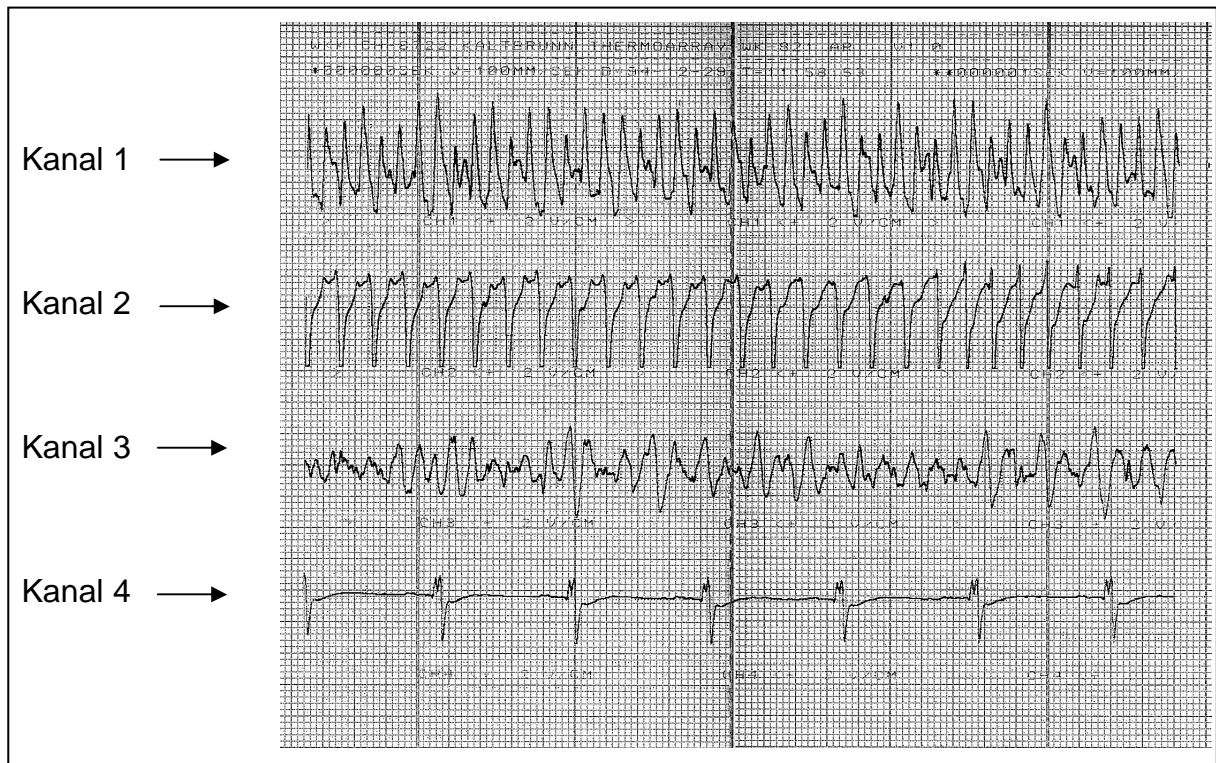


Abbildung 4: Auszug aus dem EKG-Protokoll (Bandgeschwindigkeit 100mm/sec)

Kanal 1 und 3 zeigen Herzen mit Kammerflimmern

Kanal 2 Herz mit Kammertachykardie

Kanal 4 Herz mit normalem EKG

4.2.2.3.2 Perfusionsdruck

Durch regelmäßige Eichung der Perfusionsdruckmessteile und deren Nullabgleichung vor der Kanülierung aller Herzen kann der Perfusionsdruck mit einer Messgenauigkeit von $\pm 1,5$ mmHg angegeben werden. Es werden nur Herzen ausgewertet, die während der Stabilisierungsphase einen weitgehend konstanten Perfusionsdruck zwischen 18 mmHg bis 30 mmHg zeigen. Weiterhin werden Herzen ausgeschlossen, die während der Stabilisierungsphase eine spontane Perfusionsdruckänderung von mehr als 2 mmHg zeigen, wenn sie nicht Folge einer spontanen Änderung der Herzfrequenz sind. Außerdem werden alle Herzen ausgeschlossen, die vor Koronarligatur eine spontane Perfusionsdruckänderung von mehr als 4 mmHg zeigen.

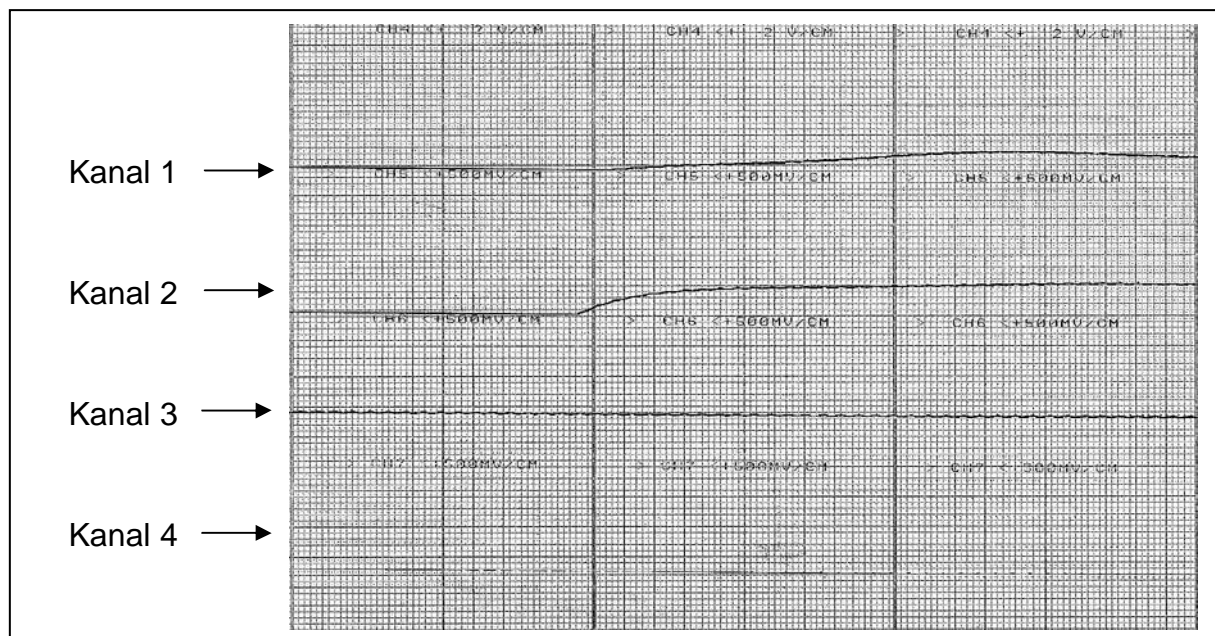


Abbildung 5: Auszug aus dem EKG- und Perfusionsdruckprotokoll (Bandgeschwindigkeit 2,5mm/sec). Kanal 2 zeigt den Druckanstieg beim Verschluss der Ligatur

Um eine erfolgreiche Ligatur voraussetzen zu können, wird für die Druckerhöhung nach erfolgter Ligatur ein Mindestwert von 20 mmHg festgelegt. Ferner wird der Einfluß der Druckerhöhung nach Koronarligatur auf die Inzidenz von Kammerflimmern untersucht.

Diese Kriterien berücksichtigen, dass die Herzfrequenz einen geringfügigen, reversiblen Einfluss auf den Perfusionsdruck hat. Allerdings werden alle Herzen mit gravierenden Perfusionsdrucksteigerungen ausgeschlossen, weil das einen möglichen Hinweis auf eine Störung der Koronarperfusion darstellen kann (Embolien, Gefäßkompressionen oder reaktive Gefäßspasmen in Folge einer Gefäßverletzung, z.B. durch das Legen der Koronarligaturschleife).

Andererseits müssen auch Herzen mit einem gravierenden Druckabfall ausgeschlossen werden, der auf eine Insuffizienz der kanülierten Aorta, der Aortenklappe oder eines Koronargefäßes hinweisen kann.

4.2.2.3.3 Probenverarbeitung

Das koronarvenöse Effluat wird in eisgekühlten Röhrchen gesammelt. Für die Noradrenalinbestimmung werden die Proben durch die Zugabe von Na₂EDTA (Endkonzentration: 10 mM) stabilisiert. Für die Purinbestimmung wird ein Aliquot entnommen und mit Phosphorsäure (Endkonzentration 0,2 M) versetzt. Die Proben bewahrt man bis zur Messung bei -30°C auf.

4.2.2.3.4 Bestimmungsmethoden

Noradrenalin

Noradrenalin wird mit einer nach Smedes et al.¹³² modifizierten Hochdruckflüssigkeitschromatographie-Methode (HPLC) bestimmt.

Zunächst wird bei einem Aliquot (3 ml der Probe) der pH-Wert mit 1 ml eines NH₄CL - NH₄OH - Puffers (2 M, pH 8,5), der 0,5% Na₂-EDTA und 0,2% Diphenylborat enthält, auf 8,5 eingestellt. Die Extraktion von Noradrenalin erfolgt in 5 ml einer organischen Phase, die aus 98,75% n-Hexan, 1% Octanol und 0,25% Tetraoctylammoniumbromid besteht.

Zur Bestimmung der Freisetzung von Noradrenalin wird in allen Versuchsreihen das koronarvenöse Effluat der Herzen jeweils über 1 min direkt vor der globalen Ischämie und direkt vor der regionalen Ischämie sowie über 5 min in der Reperfusionsphase gesammelt.

Die Noradrenalinfreisetzung in den ersten 5 min der Reperfusion nach 20 min globaler Ischämie lag in Vorexperimenten¹²² mit 140 unbehandelten Herzen auf folgendem Niveau:

-arithmetischer Mittelwert aller Werte: 240±101 pmol/g

-Standardabweichung aller Werte: 101 pmol/g (42% des Mittelwertes)

-mittlere Standardabweichung der Werte in den einzelnen Experimenten: 79,7 pmol/g (33,2% des jeweiligen Mittelwertes)

4.2.3 Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne vorhergehender globaler Ischämie/Präkonditionierung bei azidotischer Perfusion während bzw. zwischen den Intervallen globaler Ischämie

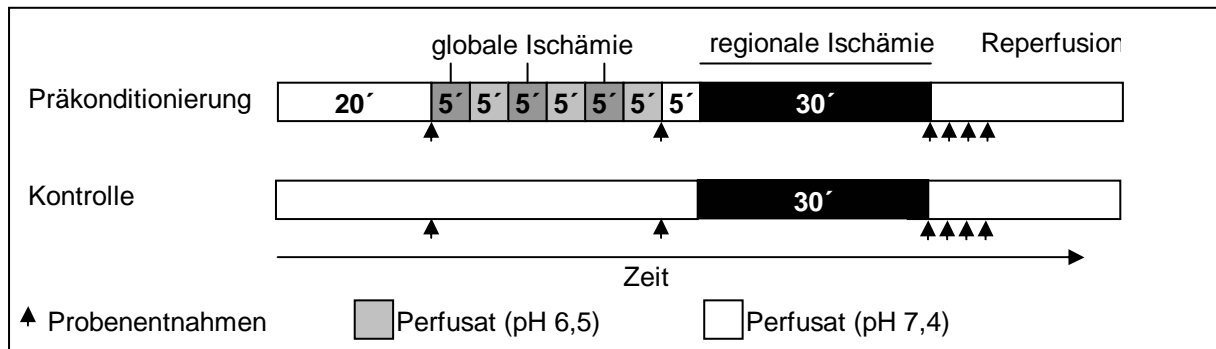


Abbildung 6: Schematische Darstellung des Versuchprotokolls zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien erzeugt durch regionale Ischämie (30 minütige Ligatur der LAD) mit und ohne Präkonditionierung (3 Perioden 5 minütiger globaler Ischämie) bei azidotischer Zwischenperfusion (pH 6,5)

Die Herzen werden, wie unter 4.2.2.1.1 beschrieben, präpariert und eine Koronarligatur, wie unter 4.2.2.1.3 durchgeführt.

Zwischen dem Beginn der Perfusion der Herzen und dem Zeitpunkt der Koronarligatur liegt ein Zeitraum von 55 min (20 min zur Stabilisierung der Herzaktion und 3 Perioden 5 minütiger globaler Ischämie, der jeweils eine 5 minütige Perfusion mit einem pH-Wert des Perfusates von 6,5 folgt). Dieser präkonditionierten Gruppe steht eine Kontrollgruppe gegenüber, die in der selben Zeit ohne Unterbrechung mit einem neutralen Perfusat (pH 7,4) perfundiert wird. In der Gruppe der Herzen, die einer Praekonditionierung unterliegen, folgt nach 50 Minuten eine 5 minütige Perfusionsphase bei einem pH-Wert des Perfusats von 7,4.

Danach wird die Koronararterie für die Dauer von 30 min okkludiert und für eine fünfminütige Reperfusionsphase wieder eröffnet.

Zur Bestimmung der Freisetzung von Noradrenalin wird das koronarvenöse Effluat der Herzen jeweils über 1 min direkt vor der globalen Ischämie und direkt vor der regionalen Ischämie sowie über 5 min in der Reperfusionsphase gesammelt.

Über den kompletten Zeitraum des Versuches werden auch hier der Perfusionsdruck und das EKG eines jeden Herzens kontinuierlich aufgezeichnet.

4.2.4 Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne vorhergehender globaler Ischämie/Präkonditionierung bei alkalischer Perfusion während bzw. zwischen den Intervallen globaler Ischämie

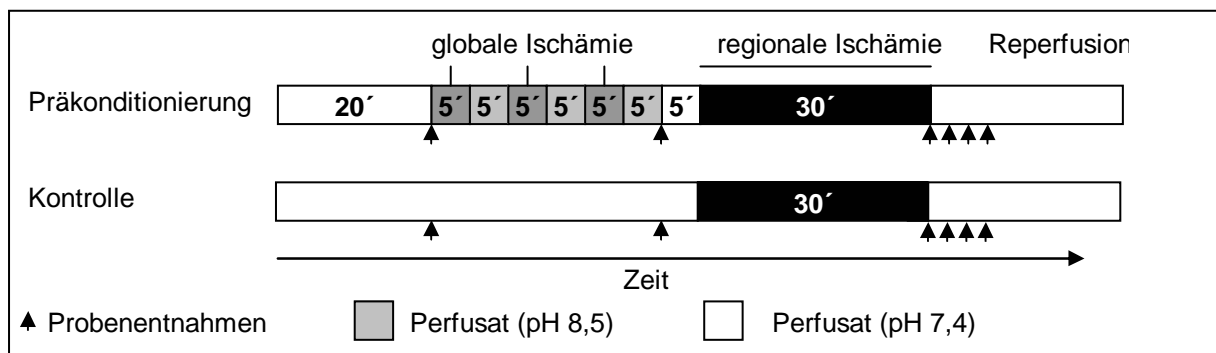


Abbildung 7: Schematische Darstellung des Versuchprotokolls zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien erzeugt durch regionale Ischämie (30 minütige Ligatur der LAD) mit und ohne Präkonditionierung (3 Perioden 5 minütiger globaler Ischämie) bei alkalischer Zwischenperfusion

Die Herzen werden, wie unter 4.2.2.1.1 beschrieben, präpariert und eine Koronarligatur, wie unter 4.2.2.1.3 durchgeführt.

Zwischen dem Beginn der Perfusion der Herzen und dem Zeitpunkt der Koronarligatur liegt ein Zeitraum von 55 min (20 min zur Stabilisierung der Herzaktion und 3 Perioden 5 minütiger globaler Ischämie, der jeweils eine 5 minütige Perfusion mit einem pH-Wert des Perfusates von 8,5 folgt). Dieser präkonditionierten Gruppe steht eine Kontrollgruppe gegenüber, die in der selben Zeit ohne Unterbrechung mit einem neutralen Perfusat (pH 7,4) perfundiert wird. In der Gruppe der Herzen, die einer Präkonditionierung unterliegen, folgt nach 50 Minuten eine 5 minütige Perfusionsphase bei einem pH-Wert des Perfusats von 7,4.

Danach wird die Koronararterie für die Dauer von 30 min okkludiert und für eine fünfminütige Reperfusionsphase wieder eröffnet.

Zur Bestimmung der Freisetzung von Noradrenalin wird in allen Versuchsreihen das koronarvenöse Effluat der Herzen jeweils über 1 min direkt vor der globalen Ischämie und direkt vor der regionalen Ischämie sowie über 5 min in der Reperfusionsphase gesammelt.

Über den kompletten Zeitraum des Versuches werden auch hier der Perfusionsdruck und das EKG eines jeden Herzens kontinuierlich aufgezeichnet.

4.2.5 Lösungen

Zusammensetzung der Krebs-Henseleit-Lösung (Angaben in mmol/l):

Na ⁺	134,70
K ⁺	4,00
Ca ²⁺	1,85
Mg ²⁺	1,00
Cl ⁻	134,80
HCO ³⁻	16,70
H ₂ PO ₄ ⁻	0,22
EDTA ²⁻	0,027
Glukose	11,10
Pyruvat	1,80

Der pH-Wert der Lösung der Lösung beträgt $7,4 \pm 0,05$

4.2.6 Statistik

Daten der Arrhythmieexperimente:

Die Angaben über das Auftreten von Tachyarrhythmien erfolgen in Form von relativen Häufigkeiten bezogen auf die Gesamtzahl pro Versuchsgruppe. Zur statistischen Prüfung der Abweichungen der einzelnen Tachyarrhythmiehäufigkeiten zwischen Kontroll- und Präkonditionierungsgruppe wird eine Vierfeldertafel herangezogen. Dem Signifikanzniveau wird eine Irrtumswahrscheinlichkeit $p < 5\%$ zugrunde gelegt. Die Signifikanzberechnungen werden bei einer Gesamtsumme der absoluten Häufigkeiten $n \geq 40$ und der Voraussetzung, dass keine gegebenen, einzelnen Häufigkeiten kleiner als 5 sind, mit Hilfe des Chi-quadrat-Vierfeldertests durchgeführt. Bei $20 < n < 40$ wird die nach Yates korrigierte Formel des Chi-quadrat-Vierfeldertests verwendet.

Falls $n < 20$ oder eine einzelne Häufigkeit kleiner als 5 ist, wird der exakte Test nach Fischer und Yates unter Zuhilfenahme der Binominalverteilungstafel durchgeführt⁷.

Daten der Freisetzungsexperimente:

Für alle quantitativen Daten werden arithmetischer Mittelwert (\bar{x}), Standardabweichung (SD) und Standardfehler des Mittelwertes (SEM) berechnet. Die Prüfung der Daten aus den Freisetzungsexperimenten auf Signifikanz erfolgt entweder mit Hilfe des Student t-Test für zwei unabhängige Stichproben oder durch eine Multi Comparison Analyse der Varianzen gefolgt durch einen Scheffe F-Test für mehrere Gruppen.

Die Berechnungen erfolgten mit dem Datenverarbeitungsprogramm STAT VIEW (Abacus concepts)

4.3 Ergebnisse

4.3.1 Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne ischämischer Präkonditionierung

Nachfolgend wird der Effekt der Präkonditionierung sowohl auf die Noradrenalinfreisetzung (s.Abb.8 u. Tab.2) als auch auf die Inzidenz von Kammerflimmern (VF) (s.Abb.9 u. Tab.3) während einer regionalen Ischämie, die durch eine Ligatur der LAD erzeugt wird, wiedergegeben.

In einer ersten Versuchsreihe wird der Sitz und die Effizienz der Ligatur überprüft (s.4.2.2.1.4). Dabei werden die Herzen nach der Ligatur mit einer Evans Blue-Lösung (0,1%) perfundiert und so anhand der unterschiedlichen Färbung der Grad der ausgelösten Ischämie bestimmt. Daraus ergibt sich ein Ischämiegebiet, das $44\pm 5\%$ des gesamten Herzens ausmacht ($n = 12$).

4.3.1.1 Noradrenalinfreisetzung

Zur Bestimmung der Freisetzung von Noradrenalin wird in allen Versuchsreihen das koronarvenöse Effluat der Herzen jeweils über 1 min direkt vor der globalen Ischämie und direkt vor der regionalen Ischämie sowie über 5 min in der Reperfusionsphase gesammelt.

Andere Untersucher¹¹⁵ zeigten, dass bereits innerhalb der ersten 2 min Reperfusion eine Auswaschung von 80 % und nach weiteren 3 min von 98% der gesamten Noradrenalinfreisetzung erfolgt ist.

Außerdem zeigten Seyferth et al¹¹⁵ auch, dass die Noradrenalinfreisetzung direkt nach einer fünfminütigen globalen Ischämie in allen Versuchen unter der Detektionsgrenze (0,1 nmol/l) liegt.

Auch in dieser Untersuchung lagen die Konzentrationen an Noradrenalin in allen Proben vor der regionalen Ischämie unter der Detektionsgrenze (0,1 nmol/l).

Zur Bestimmung der Freisetzung von Noradrenalin wird das koronarvenöse Effluat der Herzen jeweils über 1 min direkt vor der globalen Ischämie und direkt vor der regionalen Ischämie sowie über 5 min in der Reperfusionsphase gesammelt.

Bei einem konstanten Fluss von $10\pm 0,1$ ml/min ergibt sich ein Probenvolumen von jeweils 10 ml.

Die aus dem Effluat der Reperfusion berechnete Noradrenalinfreisetzung beträgt bei der Kontrollgruppe, die keiner Präkonditionierung unterliegt, nach 30 min regionaler Ischämie 81 ± 9 pmol/g ($n = 29$).

In der Gruppe der Herzen mit ischämischer Präkonditionierung (Neut+P) beträgt die Noradrenalinfreisetzung nur 47 ± 4 pmol/g ($n = 34$). Dies bedeutet, dass die Noradrenalinfreisetzung der präkonditionierten Herzen nur etwa die Hälfte (52,2%) von der der Kontrollgruppe beträgt.

Dieser Unterschied in der Noradrenalinfreisetzung zwischen den beiden Versuchsgruppen ist hoch signifikant ($p < 0.001$).

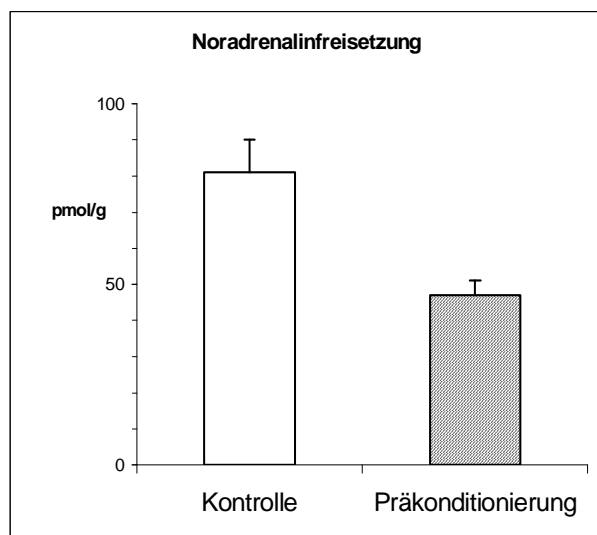


Abbildung 8: Effekt der Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie) auf die Noradrenalinfreisetzung nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, am isoliert perfundierten Rattenherz. Werte der Noradrenalinfreisetzung als Mittelwert (\bar{x}) \pm Standardabweichung (SD). $P < 0,001$ im Vergleich zur Kontrolle

Tabelle 2: Noradrenalinfreisetzung am isoliert perfundierten Rattenherz nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, mit (Neut+P) und ohne (Kontrolle) vorhergehender Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie). Werte der Noradrenalinfreisetzung als Mittelwert (\bar{x}) \pm Standardabweichung (SD). $P < 0,001$ im Vergleich zur Kontrolle

	Anzahl d. Versuchstiere N	Noradrenalinfreisetzung in pmol/g ($\bar{x} \pm \text{SD}$)
Neut +P	34	47 ± 4
Kontrolle	29	81 ± 9

4.3.1.2 Inzidenz von Kammerflimmern

Beim Auftreten von Kammerflimmern (VF) wird eine ähnliche Tendenz beobachtet (s. Abb.9 u. Tab.3). So beläuft sich die Rate am nicht präkonditionierten Herz (Kontrolle) auf 69% ($n = 29$), eine vorangegangene Präkonditionierung (Neut+P) hingegen reduziert diese Inzidenz auf 41% ($n = 34$).

Auch beim Auftreten von Kammerflimmern sind die Unterschiede zwischen den Herzen der Kontrollgruppe und denen mit vorhergehender Präkonditionierung hoch signifikant ($p < 0.001$).

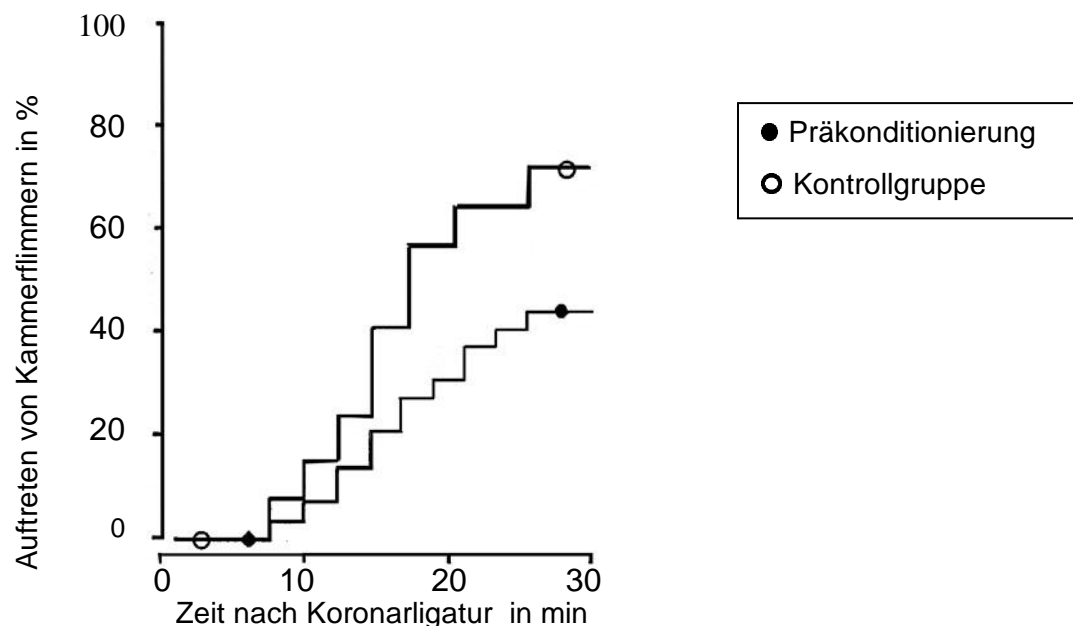


Abbildung 9: Inzidenz von Kammerflimmern am isoliert perfundierten Rattenherz nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, mit (Neut+P) und ohne (Kontrolle) vorhergehender Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie). Inzidenz von Kammerflimmern als kumulative Häufigkeit in %. $P < 0,001$ im Vergleich zur Kontrolle.

Tabelle 3: Inzidenz von Kammerflimmern am isoliert perfundierten Rattenherz nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, mit (Neut+P) und ohne (Kontrolle) vorhergehender Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie). Inzidenz von Kammerflimmern als kumulative Häufigkeit in %.

	Anzahl d. Versuchstiere N	Inzidenz v. Kammerflimmern in %
Neut +P	34	41
Kontrolle	29	69

4.3.1.3 Einfluss der Höhe des Druckanstiegs nach Koronarligatur auf die Inzidenz von Kammerflimmern und die Noradrenalinfreisetzung

Wie bereits unter 4.2.2.3.2 erwähnt werden nur Herzen ausgewertet, die während der Stabilisierungsphase einen weitgehend konstanten Perfusionsdruck zwischen 18 mmHg bis 30 mmHg zeigen. Weiterhin werden Herzen ausgeschlossen, die während der Stabilisierungsphase eine spontane Perfusionsdruckänderung von mehr als 2 mmHg zeigen, wenn sie nicht Folge einer spontanen Änderung der Herzfrequenz sind. Außerdem werden alle Herzen ausgeschlossen, die vor Koronarligatur eine spontane Perfusionsdruckänderung von mehr als 4 mmHg zeigen.

Der mittlere Perfusionsdruck (in mmHg) vor der Ligatur ist bei der Kontrollgruppe und bei den präkonditionierten Herzen nahezu identisch (s.Tab.4). So liegt der mittlere Perfusionsdruck vor Ligatur bei den Kontrollherzen bei $20,0 \pm 3$ mm Hg, bei den präkonditionierten Herzen bei $21,0 \pm 3,5$.

Der durchschnittliche Anstieg des Perfusionsdrucks beim Verschluss der Ligatur ist bei beiden Gruppen nur geringfügig verschieden (s.Tab.4). So steigt der Druck bei den Herzen der Kontrollgruppe um 38 ± 4 mmHg und bei denen der präkonditionierten Gruppe (Neut+P) um 35 ± 3 mmHg an (s.Tab.4).

Bei der Wiedereröffnung der Ligatur nach 30 Minuten regionaler Ischämie beträgt der Druckabfall in der Kontrollgruppe 32 ± 4 mmHg und bei der Gruppe der präkonditionierten Herzen (Neut+P) 30 ± 3 mmHg (s.Tab.4).

Dies bedeutet, dass sowohl beim Druckanstieg als auch beim Druckabfall kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen besteht.

Weiterhinsoll die Frage geklärt werden, ob die Höhe des Druckanstiegs einen Einfluss auf die Inzidenz von Kammerflimmern hat. Dazu werden drei Kategorien vorgegeben, die einen bestimmten Bereich des Druckanstiegs repräsentieren.

Kategorie 1:

Druckanstieg 1 – 19 mmHg

(diese Gruppe wird wie bereits in 4.3.1.3 nicht bei der Auswertung der Noradrenalinfreisetzung und der Inzidenz von Kammerflimmern berücksichtigt)

Kategorie 2:

Druckanstieg 20 – 29 mmHg

Kategorie 3:

Druckanstieg ≥ 30 mmHg

In Kategorie 1 beträgt die Inzidenz für Kammerflimmern sowohl für die Kontroll- als auch für die präkonditionierten Herzen einheitlich 33% (s.Tab.5). Bei den Herzen in Kategorie 2 mit einem Druckanstieg zwischen 20 – 29 mmHg liegt die Häufigkeit für das Auftreten von Kammerflimmern in der Kontrollgruppe bei 75% bei den präkonditionierten Herzen bei nur 42%.

Ist der Druckanstieg gleich oder höher als 30 mmHg flimmern 65% der Kontrollherzen und 52% der präkonditionierten Herzen.

Dies zeigt, dass kein linearer Zusammenhang zwischen der Höhe des Druckanstiegs, beim Verschluss der Arteria coronaria sinister und der Häufigkeit des Auftretens von Kammerflimmern besteht. Gleichzeitig wird jedoch die durch die Evans-Blue Färbungen gewonnene Erkenntnis (s. 4.2.2.1.4) unterstützt, dass bei einem Druckanstieg von weniger als 20 mmHg kein effektiver Verschluss der Arterie vorliegt.

Abbildung 10 und 11 machen deutlich, dass zwischen dem Druckanstieg bzw. -abfall nach Ligatur bzw. nach Wiedereröffnen der Arterie und der Noradrenalinfreisetzung kein linearer Zusammenhang besteht. Dies gilt sowohl für die Herzen der Kontrollgruppe als auch für die Gruppe der präkonditionierten Herzen.

Tabelle 4: Mittlerer Perfusionsdruck am Rattenherz vor Ligatur der LAD sowie der Perfusionsdruckanstieg/-abfall nach Ligatur bzw. nach Wiedereröffnung der Ligatur

	Anzahl d. Versuchstiere N	Mittlere Perfusionsdruck vor Ligatur in mmHg (X \pm SD)	Druckanstieg nach Ligatur in mmHg (x \pm SD)	Druckabfall nach Wiedereröffnung in mmHg (x \pm SD)
Neut +P	34	20 \pm 3	35 \pm 3	30 \pm 3
Kontrolle	29	21 \pm 3,5	38 \pm 4	32 \pm 4

Tabelle 5: Inzidenz von Kammerflimmern bei den Herzen der Kontrollgruppe und der Gruppe der präkonditionierten Gruppe innerhalb bestimmter festgelegter Bereiche des Druckanstiegs/-abfall nach erfolgter Ligatur der LAD.

Kat. 1: Druckanstieg 1-19 mmHg

Kat. 2: Druckanstieg 20-29 mmHg

Kat. 3: Druckanstieg \geq 30 mmHg

Kategorie 1		Kategorie 2		Kategorie 3	
Kontrolle	Neut+P	Kontrolle	Neut+P	Kontrolle	Neut+P
33%	33%	75%	49%	65%	52%

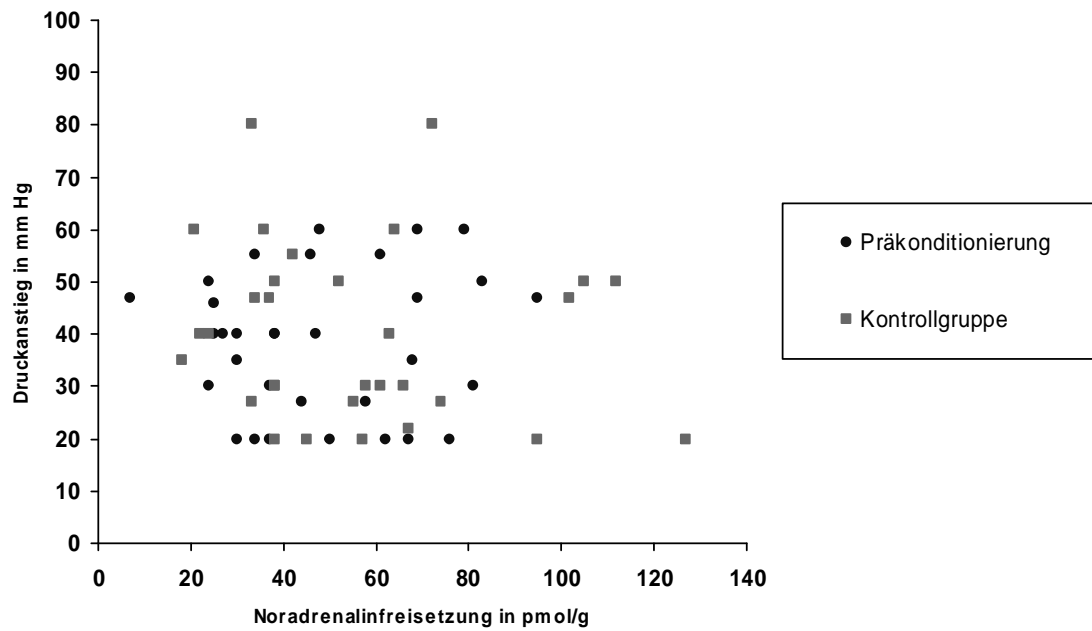


Abbildung 10: Nichtlinearer Zusammenhang zwischen der Noradrenalinfreisetzung (pmol/g) in der Reperfusion nach regionaler Ischämie und dem Druckanstieg (mm Hg) am isoliert perfundierten Herzen beim Verschluss der LAD durch Ligatur

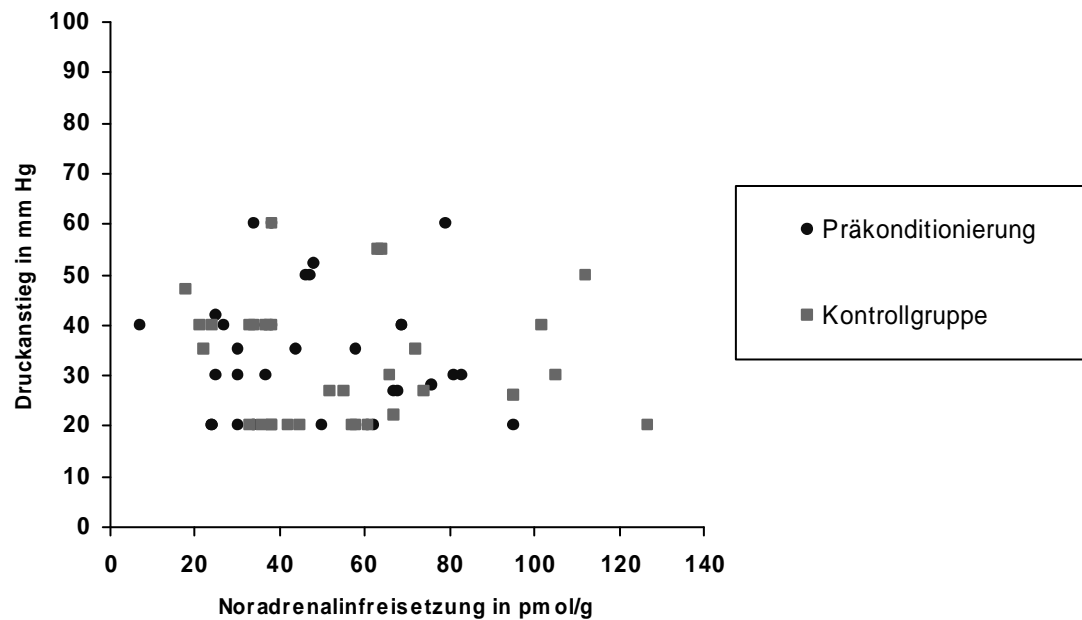


Abbildung 11: Nichtlinearer Zusammenhang zwischen der Noradrenalinfreisetzung (pmol/g) in der Reperfusion nach regionaler Ischämie und dem Druckabfall (mm Hg) am isoliert perfundierten Herzen nach Wiedereröffnung der Ligatur

4.3.2 Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit und ohne vorhergehender ischämischer Präkonditionierung bei azidotischer Perfusion während bzw. zwischen den Intervallen globaler Ischämie

Nachfolgend wird der Effekt der Präkonditionierung mit azidotischer Zwischenperfusion (Azid+P) sowohl auf die Noradrenalinfreisetzung (s.Abb.12 u. Tab.6) als auch auf die Inzidenz von Kammerflimmern (VF) (s.Abb.13 u. Tab.7) während einer regionalen Ischämie, die durch eine Ligatur der LAD erzeugt wird, wiedergegeben

4.3.2.1 Noradrenalinfreisetzung

Die aus dem Effluat der Reperfusion berechnete Noradrenalinfreisetzung (s.Abb.12 u. Tab.6) beträgt bei der Kontrollgruppe, die keiner Präkonditionierung unterliegt, nach 30 min regionaler Ischämie 81 ± 9 pmol/g ($n = 29$).

In der Gruppe der Herzen mit vorangegangener Präkonditionierung und azidotischer Zwischenperfusion (Azid+P) beträgt die Noradrenalinfreisetzung 85 ± 14 pmol/g ($n=12$)(s.Abb10 u.Tab.6). Im Gegensatz zu den Ergebnissen in 3.3.1.2 ist der Unterschied in der Noradrenalinfreisetzung zwischen den beiden Versuchsgruppen nicht signifikant.

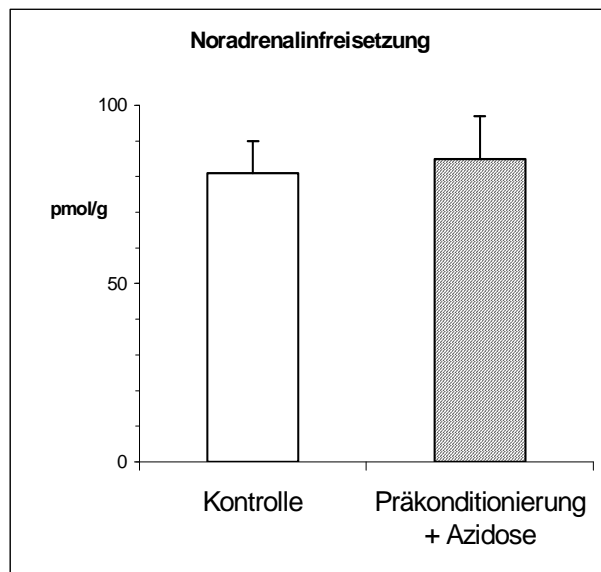


Abbildung 12: Effekt der Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie) mit azidotischer Zwischenperfusion auf die Noradrenalinfreisetzung nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, am isoliert perfundierten Rattenherz. Werte der Noradrenalinfreisetzung als Mittelwert (\bar{x}) \pm Standardabweichung (SD). Kein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrolle.

Tabelle 6: Noradrenalinfreisetzung am isoliert perfundierten Rattenherz nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, mit (Azid+P) und ohne (Kontrolle) vorhergehender Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie) bei azidotischer Zwischenperfusion. Werte der Noradrenalinfreisetzung als Mittelwert (\bar{x}) \pm Standardabweichung (SD). Kein signifikanter Unterschied im Vergleich zur Kontrolle.

	Anzahl d. Versuchstiere N	Noradrenalinfreisetzung in pmol/g ($\bar{x} \pm \text{SD}$)
Azid +P	12	85 \pm 14
Kontrolle	29	81 \pm 9

4.3.2.2 Inzidenz von Kammerflimmern

Eine azidotische Zwischenperfusion (pH 6,4) während der Präkonditionierung erhöht neben der Noradrenalinfreisetzung auch die Inzidenz von Kammerflimmern auf 73% bei den selben Herzen (s. Abb13 u. Tab.7).

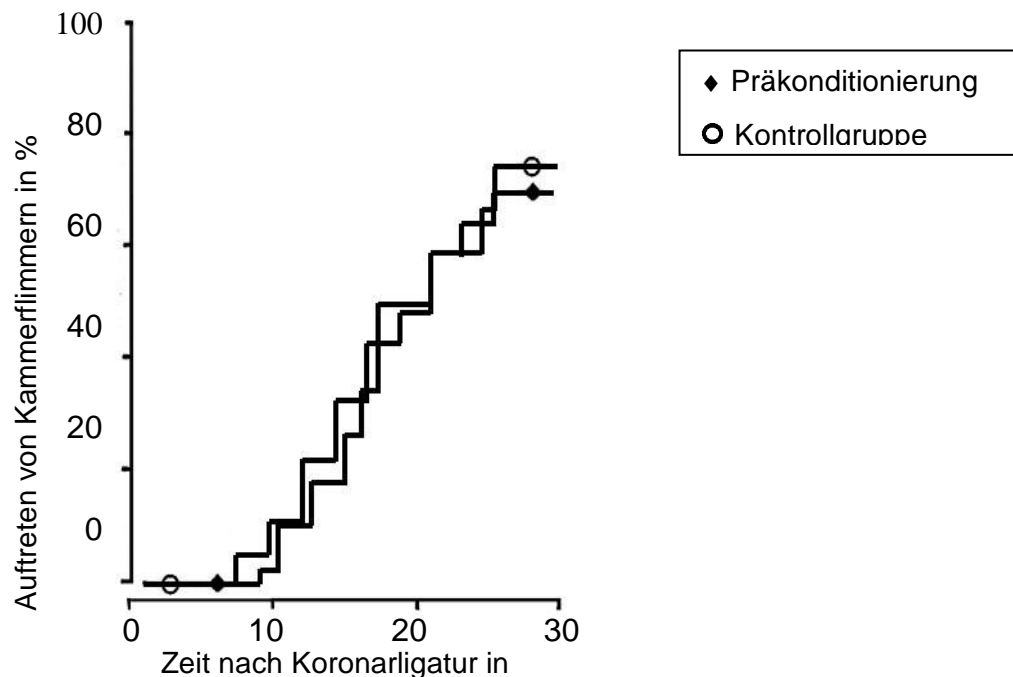


Abbildung 13: Inzidenz Kammerflimmern am isoliert perfundierten Rattenherz nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, mit (Azid+P) und ohne (Kontrolle) vorhergehender Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie) bei azidotischer Zwischenperfusion.

Inzidenz von Kammerflimmern als kumulative Häufigkeit in %. Kein signifikanter Unterschied zur Kontrolle

Tabelle 7: Inzidenz Kammerflimmern am isoliert perfundierten Rattenherz nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, mit (Azid+P) und ohne (Kontrolle) vorhergehender Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie) bei azidotischer Zwischenperfusion.

Inzidenz von Kammerflimmern als kumulative Häufigkeit in %.

	Anzahl d. Versuchstiere N	Inzidenz v. Kammerflimmern in %
Azid+P	12	73
Kontrolle	29	69

4.3.3 Regionale Ischämie zur Induktion ventrikulärer Arrhythmien mit vorhergehender globaler Ischämie/Präkonditionierung bei alkalischer Perfusion zwischen den Intervallen globaler Ischämie

Nachfolgend wird der Effekt der Präkonditionierung mit alkalischer Zwischenperfusion (Alk+P) sowohl auf die Noradrenalinfreisetzung (s.Abb.14 u. Tab.8) als auch auf die Inzidenz von Kammerflimmern (VF) (s.Abb.15 u.Tab.7) während einer regionalen Ischämie, die durch eine Ligatur der LAD erzeugt wird, wiedergegeben.

4.3.3.1 Noradrenalinfreisetzung

Die aus dem Effluat der Reperfusion berechnete Noradrenalinfreisetzung beträgt bei der Kontrollgruppe, die keiner Präkonditionierung unterliegt, nach 30 min regionaler Ischämie 81 ± 9 pmol/g ($n = 29$).

In der Gruppe der Herzen mit vorangegangener Präkonditionierung und alkalischer Zwischenperfusion (Alk+P) sinkt die Noradrenalinfreisetzung auf 31 ± 7 pmol/g ($n = 14$).

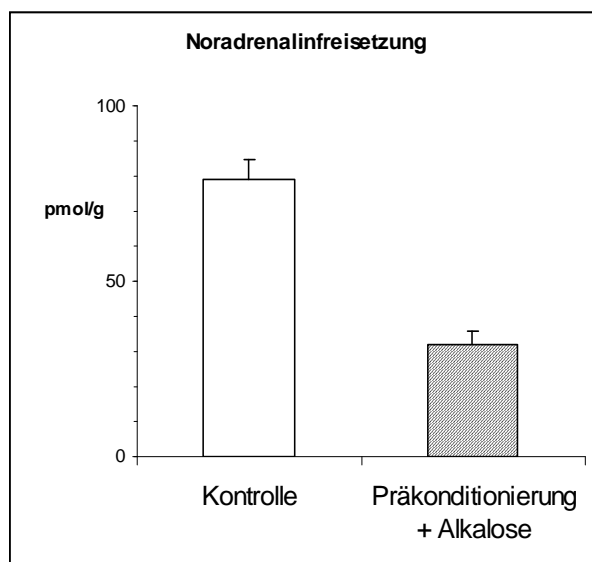


Abbildung 14: Effekt der Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie) mit alkalischer Zwischenperfusion auf die Noradrenalinfreisetzung nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, am isoliert perfundierten Rattenherz. Werte der Noradrenalinfreisetzung als Mittelwert (\bar{x}) \pm Standardabweichung (SD). $P < 0,01$ im Vergleich zur Kontrolle

Tabelle 8: Noradrenalinfreisetzung am isoliert perfundierten Rattenherz nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, mit (Alk+P) und ohne (Kontrolle) vorhergehender Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie) bei alkalischer Zwischenperfusion. Werte der Noradrenalinfreisetzung als Mittelwert (\bar{x}) \pm Standardabweichung (SD). $P < 0,01$ im Vergleich zur Kontrolle

	Anzahl d. Versuchstiere N	Noradrenalinfreisetzung in pmol/g ($\bar{x} \pm \text{SD}$)
Alk +P	14	31 \pm 7
Kontrolle	29	81 \pm 9

4.3.3.2 Inzidenz von Kammerflimmern

Eine alkalische Zwischenperfusion (pH 8,4) während der Präkonditionierung senkt neben der Noradrenalinfreisetzung auch die Inzidenz von Kammerflimmern auf 25% bei den selben Herzen. Sowohl bei der Noradrenalinfreisetzung als auch bei der Inzidenz von Kammerflimmern ist der Unterschied hoch signifikant ($p < .01$).

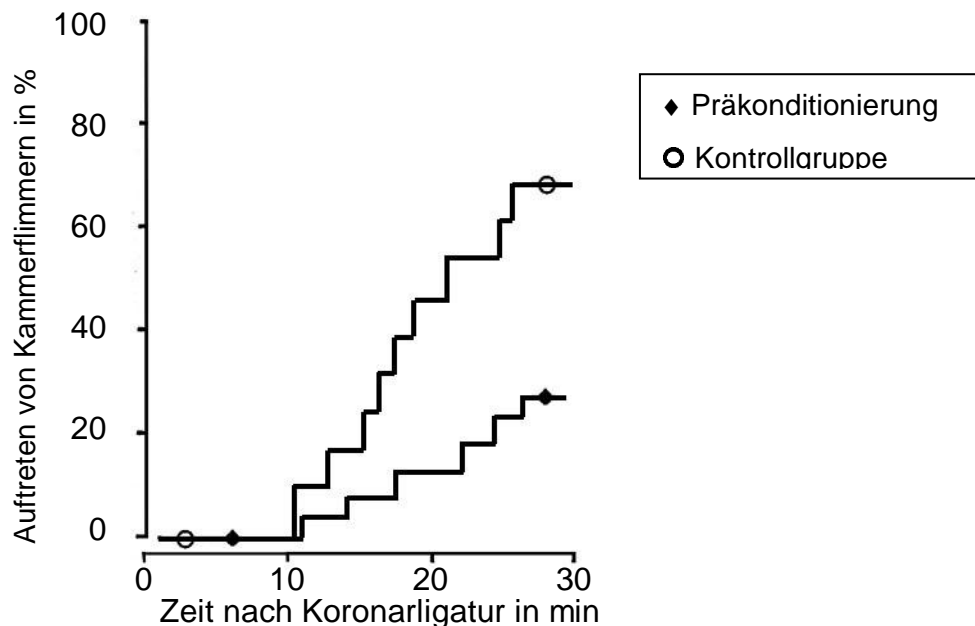


Abbildung 15: Inzidenz Kammerflimmern am isoliert perfundierten Rattenherz nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, mit (Alk+P) und ohne (Kontrolle) vorhergehender Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie) bei alkalischer Zwischenperfusion. Inzidenz von Kammerflimmern als kumulative Häufigkeit in %. $P < 0,01$ im Vergleich zur Kontrolle

Tabelle 9: Inzidenz Kammerflimmern am isoliert perfundierten Rattenherz nach regionaler Ischämie, erzeugt durch Ligatur des Ramus interventricularis der linken Koronararterie, mit (Alk+P) und ohne (Kontrolle) vorhergehender Präkonditionierung (3x5 min globale Ischämie) bei alkalischer Zwischenperfusion. Inzidenz von Kammerflimmern als kumulative Häufigkeit in %. $P < 0.01$ im Vergleich zu Kontrolle

	Anzahl d. Versuchstiere N	Inzidenz v. Kammerflimmern in %
Alk+P	14	25
Kontrolle	29	69

5 Diskussion

5.1 Grundlegende Erkenntnisse

- 1) Am Modell des isoliert perfundierten Rattenherzens konnte erstmals in dieser Studie gezeigt werden, dass der Schutz des Myokards durch ischämische Präkonditionierung durch Veränderungen des transmembranären Protonengradienten vor einer andauernden Ischämie aufgehoben oder imitiert werden kann. Die ischämische Präkonditionierung stellt einen der stärksten bekannten kardioprotektiven Mechanismen dar, der das Myokard vor adrenerger Stimulation durch sympathische Nervenenden schützt.
- 2) Diese Beobachtungen spiegeln sich in der ischämieinduzierten Noradrenalinfreisetzung und dem ischämieinduzierten Kammerflimmern, dem Resultat der arrhythmogenen Wirkung der adrenergen Stimulation des ischämischen Myokards, wieder.

5.2 Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Noradrenalinfreisetzung während anhaltender globaler Ischämie und die Rolle des transmembranären Protonengradienten

Es wurde schon in früheren Arbeiten gezeigt, dass die Verringerung der ischämieinduzierten Noradrenalinfreisetzung durch ischämische Präkonditionierung in engem Zusammenhang mit dem Ausmaß, Zeitverlauf und Reversibilität mit der Verringerung der Infarktgröße steht¹²². Im Gegensatz zu den angenommenen Mechanismen, die dem Einfluss der Präkonditionierung auf die Infarktgröße zugrunde liegen, ist die Protektion des ischämischen Myokards vor adrenerger Stimulation durch sympathische Nervenenden weder von der Aktivierung adrenerger Rezeptoren oder von Adenosinrezeptoren noch von der Aktivierung der Proteinkinase C abhängig¹²².

Es besteht wachsende Übereinstimmung dahingehend, dass nicht alle Faktoren, die durch die ischämische Präkonditionierung beeinflusst werden, einem einzigen gemeinsamen Mechanismus folgen. So ließ sich zum Beispiel die Reduktion der Infarktgröße durch Proteinkinase-C-Inhibitoren blockieren, wohingegen beim selben Experiment der Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Inzidenz von Kammerflimmern unbeeinflusst blieb¹³³.

Auch vermag die Hemmung der Proteinkinase C, obwohl sie den Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die postischämische Wiederherstellung der myokardialen Funktionen unterbindet, nicht die vorteilhafte Wirkung der Präkonditionierung auf den intrazellulären pH-Wert während der Ischämie¹⁵ erklären.

Die vorliegende Untersuchung wurde durchgeführt, um den Mechanismus der Reduktion ischämieinduzierter Noradrenalinfreisetzung durch ischämische Präkonditionierung und ihrer Korrelation zu ventrikulären Arrhythmien zu erklären.

Die ischämieinduzierte Noradrenalinfreisetzung wurde als ein nicht exozytotischer, in zwei Schritten ablaufender Vorgang beschrieben:

Zuerst entweicht im Rahmen der zellulären Energiedepletion das Noradrenalin aus den Speichervesikeln und akkumuliert im Axoplasma. Im zweiten, limitierenden Schritt wird das Noradrenalin mit Hilfe des "Uptake1"-Carriers entgegengesetzt seiner normalen Transportrichtung in den interstitiellen Spalt transportiert^{81,111,113,126}.

Da die Noradrenalinfreisetzung von der neuralen Natriumakkumulation abhängt, bei der der Na^+/H^+ - Austausch und die beeinträchtigte Funktion der Na^+/K^+ -ATPase eine Rolle spielt, wurde angenommen, dass die Hemmung der ischämieinduzierten Noradrenalinfreisetzung durch ischämische Präkonditionierung auf Veränderungen der Ionenverteilung zurückzuführen ist. Diese Veränderungen im Bereich der Ionenverteilung wird durch ischämische Präkonditionierung¹³⁶ verursacht, da die wechselnden Phasen von Ischämie und Reperfusion eine schnelle Änderung des transmembranären Protonengradienten zur Folge haben^{2,42}.

Aus diesem Grund wurde dieser Protonengradient durch verschiedene pH-Werte während der Perfusion moduliert. Die Ergebnisse zeigen einen starken Zusammenhang zwischen dem Effekt der ischämischen Präkonditionierung und dem pH-Wert der Reperfusionslösung.

So wird gefolgert, dass die Errichtung eines transmembranären Protonengradienten, dem charakteristischen Merkmal der ischämischen Präkonditionierung, nötig ist um eine protektive Wirkung auf die adrenerge Stimulation durch sympathischen Nervenenden zu entwickeln. Kontrollexperimente mit drei intermittierenden Perioden fünfminütiger alkalischer oder azidotischer Perfusion per se zeigten keinen Einfluss auf die ischämieinduzierte Noradrenalinfreisetzung.

5.3 Die Wirkung intrazellulärer, durch NH_4^+ erzeugter Azidose auf die Noradrenalinfreisetzung während der globalen Ischämie

Der transmembranäre Protonengradient während der ischämischen Präkonditionierung kann zum einen durch Veränderung des extrazellulären pH-Werts im Reperfusat und zum anderen durch Veränderung des intrazellulären pH-Werts mit Hilfe der NH_4^+ -“prepulse“-Methode beeinflusst werden^{44,101}. Bei der NH_4^+ -“prepulse“-Methode wird der intrazelluläre pH-Wert durch Perfusion mit 10 mM Lösung auf einen pH-Wert von 6,4 -6,9 gesenkt. Dabei durchlaufen die isoliert perfundierten Rattenherzen 3 fünfminütige Perioden intrazellulärer Azidose jeweils gefolgt von 5 Minuten Perfusion ohne NH_4^{Cl} . Dazu wurde untersucht, ob der Zustand einer intermittierenden intrazellulären Azidose unmittelbar vor einer anhaltenden Ischämie den Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Noradrenalinfreisetzung reproduzieren kann. Durch die Anwendung der “prepulse“ Methode (intermittierende Perioden intrazellulärer Azidose) wurde die Noradrenalinfreisetzung während der darauffolgenden Ischämie um 67% gesenkt, was in seiner Auswirkung mit dem Effekt der ischämischen Präkonditionierung vergleichbar ist.

Durch Veränderung des pH-Werts der Perfusionslösung auf 6,5 während des NH_4^+ -“prepulse“ wurde der Effekt der intermittierenden intrazellulären Azidose auf die Noradrenalinfreisetzung aufgehoben. Daraus folgt, dass die wiederholte Induktion eines transmembranären Protonengradienten den protektiven Effekt der ischämischen Präkonditionierung an den sympathischen Nervenenden des Rattenherzens imitieren kann.

Es kam zu einer geringfügigen aber signifikanten Freisetzung von Noradrenalin und seines Metaboliten 3,4-Dihydroxyphenylethylenglycol (DOPEG) während der kurzzeitigen intrazellulären Azidose. Intrazelluläre Azidose, verursacht durch die NH_4^+ -“prepulse“-Methode könnte in einem Zusammenhang stehen mit dem vesikulären Protonenpotential und zu einer axoplasmatischen Akkumulation von Noradrenalin führen, die dann letztendlich eine Freisetzung von Noradrenalin und seines DOPEG¹¹⁴ zur Folge hat.

Der NH_4^+ -“prepulse“ hatte keine Auswirkung auf die Noradrenalinfreisetzung nach Cyanidintoxikation, einem anderen Modell für die anhaltenden Energiedepletion¹⁵⁰. Dies entspricht früheren Ergebnissen, die einen starken Einfluss der ischämischen Präkonditionierung auf die ischämieinduzierte, nicht aber auf eine cyanidinduzierte Noradrenalinfreisetzung¹²² gezeigt haben. Einige Studien haben sich mit dem alleinigen Effekt von

präischämischer Azidose auf die myokardialen Parameter befasst. Während eine Studie eine verbesserte postischämische funktionelle Erholung nach kurzzeitiger präischämischer azidotischer Perfusion (pH 6,0)¹³⁰ am Kaninchenherz beobachtete, gelang dies bei einer anderen Studie mit azidotisch (pH 6,4) perfundierten Rattenherzen¹ nicht. Verringert man den intrazellulären pH-Wert während einer anhaltenden Ischämiephase, indem man die Pufferkapazität beeinflusst, wird der vorteilhafte Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Kontraktilität und metabolische Parameter am Rattenherz² aufgehoben. Bisher war keine Untersuchung verfügbar, die sich mit der Bedeutung des transmembranären Protonengradienten während der ischämischen Präkonditionierung auf die Infarktgröße oder Arrhythmien beschäftigt hat.

5.4 Zum Zusammenhang zwischen ischämischer Präkonditionierung neuralen Gewebes und ischämieinduziertem Kammerflimmern

Da eine interstitielle Akkumulation von Noradrenalin die Schädigung des ischämischen Myokards¹⁰⁶ beschleunigt und an der Entstehung ischämieinduzierter Arrhythmien²⁶ beteiligt ist, könnte eine Hemmung der nichtexozytotischen Noradrenalinfreisetzung zu einer Verringerung der ischämischen Schäden am Myokard führen. Die eigene Untersuchung am Modell der regionalen Ischämie beim isoliert perfundierten Rattenherz konnte zeigen, dass sowohl die ischämieinduzierte Noradrenalinfreisetzung als auch die Inzidenz von Kammerflimmern durch ischämische Präkonditionierung und durch Veränderung des transmembranären Protonengradienten in ähnlicher Weise reduziert werden können. Obgleich die Rolle der Katecholamine bei der ischämischen Präkonditionierung bzgl. einer Reduzierung der Infarktgröße kontrovers diskutiert wird^{122,146}, gibt es deutliche Hinweise dafür, dass ischämieinduzierte Arrhythmien durch eine Noradrenalinfreisetzung während der Ischämie verursacht^{25,67} und durch ischämische Präkonditionierung beeinflusst werden können.

5.5 Das pH-Wert regulierende Ionen-Transportsystem und der Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Noradrenalinfreisetzung

Da die nichtexozytotische, carrier-vermittelte Noradrenalinfreisetzung während der Ischämie von der Natriumakkumulation im Axoplasma¹¹⁴ abhängig ist, konzentriert sich die Erklärung, warum die Induktion eines transmembranalen Protonengradienten für den Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Noradrenalinfreisetzung nötig ist, auf pH-regulierende Transportsysteme.

Eine Aktivierung des Na^+/H^+ -Austauschers durch die ischämische Präkonditionierung wurde vorgeschlagen¹⁰¹ und eine Blockade des Na^+/H^+ -Austauschers wurde untersucht^{13,127}.

Was die Infarktgröße¹³ betrifft, unterstützen die Daten der vorliegenden Untersuchung die Annahme, dass es durch eine Blockade des Na^+/H^+ -Austauschers zu einem zusätzlichen Schutz des Myokards neben der Protektion durch die ischämische Präkonditionierung kommt.

Dies stimmt mit den Ergebnissen der meisten Untersuchungen überein die zeigen, dass eine Hemmung des Na^+/H^+ -Austauschers während anhaltender Ischämie einen positiven Einfluss ausübt^{13,127}.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die hier vorgestellte Untersuchung die bedeutende Rolle des Protonengradienten während der ischämischen Präkonditionierung und deren protektiven Einfluss auf die sympathischen Nervenenden am Rattenherz zeigt und diese Beobachtung mit dem ischämieinduzierten Kammerflimmern als myokardialen Endpunkt verbindet.

Dies hilft vielleicht nicht nur die Protektion des neuralen Gewebes am ischämischen Herz besser zu verstehen, sondern auch die ischämische Präkonditionierung als protektiven Mechanismus an den myokardialen Endpunkten, Infarktgröße und Arrhythmien zu erklären und weitere Studien anzuregen, die sich mit den Mechanismen der pH-Regulation befassen.

5.6 Ischämische Präkonditionierung und ihre klinische Relevanz

Im Tierexperiment kann das Ausmass der Infarktgrösse nach Koronarokklusion durch kurze vorangehende Ischämiephasen deutlich reduziert werden. Dieser Effekt der ischämischen Präkonditionierung ist einer der stärksten bekannten kardioprotektiven Mechanismen.

Immer mehr Befunde sprechen dafür, dass auch beim Menschen präkonditionierende Effekte in verschiedenen physiologischen und pathophysiologischen Situationen eine Rolle spielen. Beispielsweise kann das Auftreten von Präinfarktangina vor einem Herzinfarkt zu einer vom zeitlichen Verlauf der Präinfarktangina abhängigen Infarktgrössenreduktion führen⁶³. Ebenso wird die „Walking-Through“-Angina, das heisst das Nachlassen einer belastungsinduzierten pektanginösen Symptomatik bei fortgesetzter Belastung, auf protektive Effekte einer ischämischen Präkonditionierung zurückgeführt⁸². Auch im Rahmen einer Koronarangioplastik führt bei zwei aufeinander folgenden Balloninsufflationen die zweite Insufflation im Vergleich zur ersten zu einer geringeren Ischämiereaktion und zu einer verminderten Anginasymptomatik¹⁰⁷. Diese Beobachtung wird als Präkonditionierung gedeutet.

Auf der Basis tierexperimenteller Befunde sind verschiedene pharmakologische Substanzen identifiziert worden, durch welche ein kardioprotektiver Effekt im Sinne einer „pharmakologischen Präkonditionierung“ beim Menschen induziert werden kann. In klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass die Applikation von Adenosin, von Adenosinrezeptorantagonisten⁴⁷ und von Dipyridamol¹⁴⁰ (einem Hemmstoff des Nucleosidtransports) vor Koronarangioplasten zu einer geringeren Ischämiereaktion während der nachfolgenden Balloninsufflation führt. Auch die Verringerung myokardialer Ischämiephasen bei Patienten mit instabiler Angina pectoris unter Nicorandil (einem Aktivator des ATP-sensitiven Kaliumkanals) wird als pharmakologisch induzierte Präkonditionierung gedeutet¹¹⁹. Zusätzlich wurden bei verschiedenen operativen Eingriffen am Herzen therapeutische Konzepte zur myokardialen Präkonditionierung entwickelt: Durch kurze Ischämiephasen und pharmakologische Präkonditionierung vor Koronarangioplastie, vor herzchirurgischen Eingriffen oder zur Protektion von Spenderherzen bei geplanten Herztransplantationen konnte in verschiedenen experimentellen und klinischen Studien eine Kardioprotektion induziert werden²⁰. Andererseits sollten insbesondere bei Patienten mit KHK potentielle „antipräkonditionierende“ Effekte einer Vielzahl von Medikamenten in Betracht gezogen werden. So wurde bei Patienten unter Therapie mit Sulfonylharnstoffpräparaten, wie etwa Glibenclamid, bei denen im Rahmen eines akuten Myokardinfarkts eine

Ballonangioplastie durchgeführt wurde, eine höhere Frühmortalität gegenüber Kontrollen gezeigt¹⁴⁰.

Das Ziel zukünftiger Forschung sollte darin bestehen, den aus dem Tierlabor bekannten Schutzmechanismus der Präkonditionierung zum klinisch therapeutischen Einsatz zu bringen und durch kontrollierte klinische Studien den Transfer vom „laboratory-based“ Phänomen zur „evidenced-based“ Therapie zu erreichen.

6 Zusammenfassung

Ischämische Präkonditionierung schützt myokardiales und neuronales Gewebe im Herz. Die vorliegende Studie untersuchte, inwieweit sich ein transmembranärer Protonengradient, der sich während der ischämischen Präkonditionierung aufbaut, auf die Reduktion der ischämisch induzierten Noradrenalinfreisetzung auswirkt und welche Rolle dieser Effekt auf das ischämisch induzierte Kammerflimmern hat.

Ischämische Präkonditionierung senkt die Noradrenalinfreisetzung während einer 20-minütigen globalen Ischämie um 56%. Eine azidotische Perfusion (pH 6.5) der Herzen während der ischämischen Präkonditionierung hob den Effekt der ischämischen Präkonditionierung auf die Noradrenalinfreisetzung vollkommen auf. Eine alkalische Perfusion (pH 8.5) hingegen senkte die Noradrenalinfreisetzung um 72%. Bei neutraler Perfusion während einer 30-minütigen Ligatur der LAD zur Erzeugung einer regionalen Ischämie durch ischämische Präkonditionierung reduzierte sich die Noradrenalinfreisetzung von 81 ± 9 auf 47 ± 4 pmol/g und die Inzidenz für Kammerflimmern von 69% auf 41%. Unterlagen Herzen während der ischämischen Präkonditionierung einer azidotischen Reperfusion, wurde der Effekt der ischämischen Präkonditionierung vollständig aufgehoben (Noradrenalin: 85 ± 14 pmol/g; Kammerflimmern: 71%). Dem gegenüber nahm der protektive Effekt der ischämischen Präkonditionierung erkennbar an der Noradrenalinfreisetzung (31 ± 5 pmol/g) und dem Kammerflimmern (25%) bei alkalisch reperfundierten Herzen zu.

Die Abnahme der Noradrenalinfreisetzung durch ischämische Präkonditionierung ist von einem transmembranären Protonengradienten während der ischämischen Präkonditionierung abhängig. Die ischämische Präkonditionierung kann durch wiederholte intrazelluläre Azidose imitiert werden. Die Abnahme der Freisetzung von Noradrenalin durch ischämische Präkonditionierung ist verbunden mit einem gleichzeitigen Rückgang des ischämisch induzierten Kammerflimmerns.

7 Summary

Study on the influence of ischemic preconditioning on the norepinephrine release and the ventricular fibrillation in rat hearts ex vivo (Langendorff), with consideration of the transmembrane proton gradient

Ischemic preconditioning protects myocardial and neural tissue in the heart. The present study tested, whether a transmembrane proton gradient, built up during ischemic preconditioning, is involved in the reduction of ischemic-induced norepinephrine release, and, what is the impact of this effect on ischemic-induced ventricular fibrillation.

Ischemic preconditioning reduced norepinephrine release during 20 minutes global ischemia by 56%. Perfusing the hearts with an acidic perfusion buffer (pH 6.5) during ischemic preconditioning completely abolished the effects of ischemic preconditioning on norepinephrine release, while an alkaline perfusion buffer (pH 8.5) during ischemic preconditioning suppressed norepinephrine release by 72%.

During 30 min ligation of LAD for regional ischemia, norepinephrine release and the incidence of ventricular fibrillation were reduced by ischemic preconditioning from 81 ± 9 to 47 ± 4 pmol/g (norepinephrine) and from 69% to 41% (ventricular fibrillation). When hearts were reperfused during ischemic preconditioning with an acidic medium, the effect of ischemic preconditioning was completely abolished (norepinephrine: 85 ± 14 pmol/g; ventricular fibrillation: 71%).

Furthermore, hearts reperfused with an alkaline medium showed an increased effect of ischemic preconditioning on norepinephrine release (31 ± 5 pmol/g) and ventricular fibrillation (25%).

Reduction of norepinephrine release by ischemic preconditioning depends on transmembrane proton gradient during ischemic preconditioning and ischemic preconditioning can be imitated by intermittent intracellular acidosis. The reduction of norepinephrine release by ischemic preconditioning is accompanied by a parallel reduction of ischemia-induced ventricular fibrillation.

8 Literaturverzeichnis

1. Abrahamsson T, Almgren O, Carlsson L: Ischemia-induced noradrenaline release in the isolated rat heart: Influence of perfusion substrate and duration of ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 1983;15:821-830
2. Albuquerque C, Gerstenblith G, Weiss RG: Importance of metabolic inhibition and cellular pH in mediating preconditioning contractile and metabolic effects in rat hearts. *Circ Res* 1994;74:139-150
3. Aronson PS: Kinetic properties of the plasma membrane Na^+ - H^+ exchanger. *Annu Rev Physiol* 1985 47:545-560
4. Asimakis GK, Inners-McBride K, Medellin G, Conti VR: Ischemic preconditioning attenuates acidosis and postischemic dysfunction in isolated rat heart. *Am J Physiol* 1992;263:H887-H894
5. Baker PF, Knight DE: Calcium-dependent exocytosis in bovine adrenal medullary cells with leaky plasma membranes. *Nature* 1978;276:620-622
6. Balschi JA, Frazer JC, Fетters JK, Clarke K, Springer CS, Smith TW, Ingwall JS: Shift reagent and DNA nuclear magnetic resonance discriminates between extra and intracellular sodium pools in ischemic heart. *Circulation* 1985;72(suppl 111):111-355
7. Bamberg G., Baur F. (1996): Statistik, München: Oldenbourg, 1996
8. Banerjee A, Locke-Winter C, Rogers KB, Mitchell MB, Brew EC, Cairns CB, Bensard DD, Harken AH: Preconditioning against myocardial dysfunction after ischemia and reperfusion by an α 1-adrenergic mechanism. *Cir Res* 1993;73:656-670
9. Bayes de Luna A, Coumel P, Leclercq JF: Ambulatory sudden cardiac death: mechanisms of production of fatal arrhythmia on the basis of data from 157 cases. *Am Heart J* 1989;117: 151-159
10. Beers MF, Carty SE, Johnson RG, Scarpa A: H^+ -ATPase and catecholamine transport in chromaffin granules. *Ann NY Acad Sci* 1982;402:116-133
11. Benedict CR, Graham-Smith DG: Plasma adrenaline and noradrenaline concentrations and dopamine- β -hydroxylase activity in myocardial infarction with and without cardiogenic shock. *Br Heart J* 1979;42:214-220
12. Bertel O, Bühler FR, Baitsch G, Ritz R, Burkart F: Plasma adrenaline and noradrenaline in patients with acute myocardial infarction. Relationship to ventricular arrhythmias of varying severity. *Chest* 1982;82:64-68
13. Bugge E, Ytrehus K: Inhibition of sodium-hydrogen exchange reduces infarct size in the isolated rat heart – a protective additive to ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* 1995;29:269-274
14. Carlsson L, Abrahamsson T, Almgren O: Local release of myocardial norepinephrine during acute ischemia: an experimental study in the isolated perfused rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985;7:791-798
15. Chen W, Wetsel W, Steenbergen C, Murphy E: Effect of ischemic preconditioning and PKC activation on acidification during ischemia in rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:871-880
16. Corr PB, Creer MH, Yamada KA, Safhtz JE, Sobel BE: Prophylaxis of early ventricular fibrillation by inhibition of acylcarnitine accumulation. *J Clin Invest* 1989;83:927-936.

17. Corr PB, Gillis RA: Autonomic neural influences on the dysrhythmias resulting from myocardial infarction *Circ Res* 1978;43: 1-9
18. Corr PB, Shayman BA, Kramer JB, Kipnis RJ: Increased α -adrenergic receptors in ischemic cat myocardium: A potential mediator of electrophysiological derangements. *J Clin Invest* 1981;67:1232-1236.
19. Corr PB, Yamada KA, Witkowski FX: Mechanisms controlling cardiac autonomic function and their relation to arrhythmogenesis. In: Fozzard, H. A., R. B. Jennings, A. M. Katz, H. E. Morgan (eds.): *The Heart and Cardiovascular System*. Raven Press, New York 1986, pp 1343-1403
20. Cremer J, Steinhoff G, Karck M, et al. Ischemic preconditioning prior to myocardial protection with cold blood cardioplegia in coronary surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 1997;12:753-8
21. Culling W, Penny WJ, Cunliffe G, Flores NA, Sheridan DJ: Arrhythmogenic and electrophysiological effects of alpha adrenoceptor stimulation during myocardial ischaemia and reperfusion. *J Molec Cell Cardiol* 1987;19:251-258.
22. Culling W, Penny WJ, Lewis MJ, Middlelon K, Sheridan: Effects of myocardial catecholamine depletion on cellular electrophysiology and arrhythmias during myocardial ischaemia and reperfusion. *Cardiovasc. Res.* 1984;18:675- 682.
23. Dart AM, Riemersma RA, Schömig A, Ungar A: Metabolic requirements for release of endogenous noradrenaline during myocardial ischaemia and anoxia. *Br J Pharmacol* 1987; 90:43-50
24. Dart AM, Schömig A, Dietz R, Mayer E, Kübler W: Release of endogenous catecholamines in the ischemic myocardium of the rat. Part B: Effect of sympathetic nerve stimulation. *Circ Res* 1984;55:702-706
25. Dart AM: Influence of myocardial ischaemia on exocytotic noradrenaline release. In: Brachmann J., Schömig A (eds): *Adrenergic System and Ventricular Arrhythmias in Myocardial Infarction*. New York Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 1989, pp 34-43
26. Daugherty A, Frayn KN, Redfern WS, Woodward B: The role of catecholamines in the production of ischaemia-induced ventricular arrhythmias in the rat in vivo and in vitro. *Br J Pharmacol* 1986;87:265-277
27. Davies MJ: Anatomic features in victims of sudden coronary death. *Circulation* 1992;85 (suppl):119-124
28. Devos C, Robberecht P, Nokin P, Waelbroeck M, Clinet M, Camus JC, Besulort P, Schoenfeld P, Christophe J: Uncoupling between beta-adrenoceptors and adenylate cyclase in dog ischemic myocardium. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1985;331:71-75
29. Dietz R, Offner B, Dart AM, Schomig A: Ischemia induced noradrenaline release mediates ventricular arrhythmias. In: Brachmann J, A. Schömig (eds.): *Adrenergic mechanisms and ventricular arrhythmias in myocardial infarction*. Springer. Berlin-Heidelberg-New York 1989, pp 313-321
30. Duff HJ, Lester WM, Rahmberg M: Amiloride. Antiarrhythmic and electrophysiological activity in the dog. *Circulation* 1988;78:1469-1477
31. Duff HJ, Mitchell LB, Kavanagh KM, Manyari DE, Gillis A, Wyse DG: Amiloride. Antiarrhythmic and electrophysiologic actions in patients with inducible sustained ventricular tachycardia. *Circulation* 1989;79:1257-1263

32. Ebert A, Vanderbeek RB, Allgood RJ, Sabiston DC: Effect of chronic cardiac denervation on arrhythmias after coronary artery ligation. *Cardiovasc Res* 1970;4:141-147
33. Ellis SO, Henschke CI, Sandor T, Wynne J, Braunwald E, Kloner RA: Time course of functional and biochemical recovery of myocardium salvaged by reperfusion. *J Am Coll Cardiol* 1983;1:1047-1055
34. Endoh M, Hiramoto T, Ishihata A, Takanashi M, Inni J: Myocardial α -adrenoceptors mediate positive inotropic effect and changes in phosphatidylinositol metabolism. Species differences in receptor distribution and the intracellular coupling process in mammalian ventricular myocardium. *Circulat Res* 1991;68:1179-1190
35. Esler M, Jennings G, Korner P, Blombery P, Sacharias N, Leonard P: Measurement of total and organ-specific norepinephrine kinetics in humans. *Am J Physiol* 1984;247:E21-E28
36. Euler von US, Lishajko F: Effect of adenine nucleotides on catecholamine release and uptake in isolated adrenergic nerve granules. *Acta Physiol Scand* 1963;59:454-461
37. Fiolet WT, Baartscheer A, Schumacher CA, Coronel R, Welle HF: The change of the free energy of ATP hydrolysis during global ischemia and anoxia in the rat heart. Its possible role in the regulation of transsarcolemmal sodium and potassium gradients. *J Mol Cell Cardiol* 1984;16: 1023-1036
38. Forfar JC, Riemersma RA, Oliver MF: Alpha-adrenoceptor control of norepinephrine release from acutely ischemic myocardium: Effects of blood flow, arrhythmias, and regional conduction delay. *J Cardiovasc Pharmacol* 1983;5:752-759
39. Fowler CJ, Orelund L: The nature of the substrate-selective interaction between rat liver mitochondrial monoamine oxidase and oxygen. *Biochem Pharmacol* 1980;29:2225-2233
40. Franco-Cereceda A, Saria A, Lundberg JM: Differential release of calcitonin-gene related peptide and neuropeptide Y from the isolated heart by capsaicin, ischaemia, nicotine, bradykinin. *Acta Physiol Scand* 1989;135:173-187
41. Freissmuth M, Schotz W, Weindimayer-Gattel M, Zimpfer M, Spiss CK: Effects of ischemia on the canine myocardial α -adreno receptor-linked adenylate cyclase system. *J Cardiovasc Pharmacol* 1987;10:568-574.
42. Garnier A, Rossi A, Lavanchy N: Importance of the early alterations of energy metabolism in the induction and the disappearance of ischemic preconditioning in the isolated rat heart. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:1671-1682
43. Goldstein S, Landis JR, Leighton R, Ritter G, Vasu CM, Lantis A, Serokman R: Characteristics of the resuscitated out-of-hospital cardiac arrest victim with coronary heart disease. *Circulation* 1981;64:977-84
44. Grace AA, Kirschenlohr HL, Metcalfe JC, Smith GA, Weissberg PL, Cragoe EJ, Vandenberg JI: Regulation of intracellular pH in the perfused heart by external HCO_3^- and Na^+/H^+ exchange. *Am J Physiol* 1993;265:H289-H298
45. Graefe KH, Zeitner CJ, Fuchs G, Keller B: Role played by sodium in the membrane transport of 3H-noradrenaline across the axonal membrane of noradrenergic neurons. In: Fleming WW (ed): *Neuronal and Extraneuronal Events in Autonomic Pharmacology*. New York, Raven Press, Publishers, 1984, pp 51-62

46. Graefe KH: On the mechanism of non-exocytotic release of noradrenaline from noradrenergic neurons. In; Brachmann J, Schömig A (eds): *Adrenergic System and Ventricular Arrhythmias in Myocardial Infarction*. New York Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 1989, pp 44-52
47. Granger CB. Adenosine for myocardial protection in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1997; 79:44-8
48. Griffiths J. Leung F: The sequential estimation of plasma catecholamines and whole blood histamine in myocardial infarction. *Am Heart J* 1971;82:171-179
49. Hass M, Hock M, Richardt G. Schömig A: Neuropeptide Y differentiates between exocytotic and nonexocytotic noradrenaline release in guinea-pig heart. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1989;340:509-515
50. Heathers GP, Yamada KA, Kanter EM, Corr PM: Long chain acylcarnitines mediate the hypoxia-induced increase in β -adrenergic receptors on adult canine myocytes. *Circulat Res* 1987;61:735-746.
51. Heathers, G P., Evers AS, Corr PB: Enhanced inositol trisphosphate response to β -adrenergic stimulation in hypoxic cardiac myocytes. *J. Clin. Invest.* 1989; 83 ;1409-1413
52. Hirche HJ, Franz C, Bös L, Bissig R, Lang R, Schramm M: Myocardial extracellular K^+ and H^+ increase and noradrenaline release as possible cause of early arrhythmias following acute coronary artery occlusion in pigs. *J Mol Cell Cardiol* 1980;12:579-593
53. Holmgren S, Abrahamsson T, Almgren O, Eriksson BM: Effect of ischaemia on the adrenergic neurons of the rat heart: A fluorescence histochemical and biochemical study. *Cardiovasc Res* 1981;15:680-689
54. Holmgren S, Abrahamsson T, Almgren O: Adrenergic innervation of coronary arteries and ventricular myocardium in the pig: fluorescence microscopic appearance in the normal state and after ischemia. *Basic Res Cardiol* 1985;80:18-26
55. Iseri KT, Humphrey SB, Siner EJ: Prehospital bradysystolic cardiac arrest. *Ann Intern Med* 1978;88: 741-745
56. Iversen LL: Role of transmitter uptake mechanisms in synaptic neurotransmission. *Br J Pharmacol* 1971;41:571-591
57. J Janse MJ, Wit AL: Electrophysiological mechanisms of ventricular arrhythmias resulting from myocardial ischemia and infarction. *Physiol Rev* 1989;69: 1049-1149
58. Kamarck T, Jennings JR: Behavioral factors in sudden cardiac death. *Psychol Bull* 1991;109: 42-75)
59. Kannel WB, Schatzkin A: Lessons from subsets in population studies . *J Am Coll Cardiol* 1985; 46:141B-149B
60. Kannengiesser GJ, Lubbe WF, Opie LH: Experimental myocardial infarction with left ventricular failure in the isolated perfused rat heart: effects of isoproterenol and pacing. *J Mol Cell Cardiol* 1975;7:135-151
61. Karlsberg RP, Cryer PE, Roberts R: Serial plasma catecholamine response early in the course of clinical acute myocardial infarction: relationship to infarct extent and mortality. *Am Heart J* 1981;102:24-29
62. Kida M, Fujiwara H, Ishida M, Kawai C, Ohura M, Miura I, Yabuuchi Y: Ischemic preconditioning preserves creatine phosphate and intracellular pH. *Circulation* 1991;84:2495-2503
63. Kloner RA, Shook T, Antman EM, et al. Prospective temporal analysis of the onset of preinfarction angina versus outcome: an ancillary study in TIMI-9B. *Circulation* 1998;97:1042-5

64. Knight DE, von Grafenstein H, Maconochie DJ: Intracellular requirements for exocytotic noradrenaline release. In; Brachmann J, Schömig A (eds): *Adrenergic System and Ventricular Arrhythmias in Myocardial Infarction*. New York Berlin/ Heidelberg, Springer-Verlag, 1989, pp 3-20
65. Kohl C., Schmitz W. Scholz H, Scholz J, Toch M. Doering M, Kalmar P: Evidence for α_1 -adrenoceptor-mediated increase of inositoltrisphosphate in the human heart. *J. Cardiovasc Pharmacol.* 13 (1998);324-327.
66. Kopin IJ, Zukowska-Grojec Z, Bayorh MA, Goldstein DS: Estimation of intrasynaptic norepinephrine concentrations at vascular neuroeffector junctions in vivo. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1984;325:298-305
67. Kurz T, Offner B, Schreieck J, Richardt G, Tölg R, Schömig A: Nonexocytotic noradrenaline release and ventricular fibrillation in ischemic rat hearts. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1995;352:491-496
68. Langendorff O: Untersuchungen am überlebenden Säugetierherzen. *Arch Ges Physiol* 1895;61:291-232
69. Langer SZ: Presynaptic regulation of the release of catecholamines. *Pharmacol Rev* 1981;32:337-362
70. Lazdunski M, Frelin C, Vigne P: The sodium hydrogen exchange system in cardiac cells: its biochemical and pharmacological properties and its role in regulating internal concentrations of sodium and internal pH. *J Mol Cell Cardiol* 1985; 17:1029-1042
71. Leclercq JF, Coumel P, Maisonblanche P, Gauchemer B, Zimmermann M: Mise en évidence des mécanismes déterminants de la mort subite. Enquête cooperative portant sur 69 cas enregistrés par la méthode de Holter. *Arch Mal Cœur Vaiss* 1986;79:695-708
72. Li Y, Whittaker P, Kloner RA: The transient nature of the effect of ischemic preconditioning on myocardial infarct size and ventricular arrhythmia. *Am Heart J* 1992; 123:346-353
73. Liu Y, Downey JM: Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart. *Am J Physiol* 1992;263: H1107-H1112
74. Lown B: Sudden cardiac death: the major challenge confronting contemporary cardiology. *Am J Cardiol* 1979;43:313-329
75. Lubbe WF, Nguyen T, West EJ: Modulation of myocardial cyclic AMP and vulnerability to fibrillation in the rat heart. *Fed Proc* 1983;42:2460-2464
76. Maisel AS, Motulsky HJ, Insel PA: Externalization of α_1 -adrenergic receptors promoted by myocardial ischemia. *Science* 1985;230:183-186.
77. Maisel AS, Motulsky HJ, Ziegler MG, Insel PA: Ischemia and agonist-induced changes in α_1 - and α_2 -adrenergic receptor traffic in guinea pig hearts. *Am J Physiol* 1987;253
78. Malliani A, Schwartz PJ, Zanchetti A: A sympathetic reflex elicited by experimental coronary occlusion. *Am J Physiol* 1969;217:703-709
79. Markus FL, Cobb LA, Edwards JE, Kuller L, Moss J, Bigger T, Fleiss JL, Rolnitzky L, Serikman R: Multicenter post-infarction research. Mechanism of death and prevalence of myocardial ischemic symptoms in the terminal event after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 1988;61:204-217
80. Mathewson ZM, McCloskey BG, Evans AE, Russell CJ, Wilson: Mobile coronary care and community mortality from myocardial infarction. *Lancet* 1985;441-444

81. Maxwell MP, Hearse DJ, Yellon DM: Species variation in the coronary collateral circulation during regional myocardial ischemia: a critical determinant of the rate of evolution and extent of myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1987;21:737-746
82. Maybaum S, Ilan M, Mogilevsky J, et al. Improvement in ischemic parameters during repeated exercise testing: a possible model for myocardial preconditioning. *Am J Cardiol* 1996;78:1087-91
83. McGrath BP, Lim SP, Leversha L, Shanahan A: Myocardial and peripheral catecholamine responses to acute coronary artery constriction before and after propranolol treatment in the anaesthetized dog. *Cardiovasc Res* 1981;15:28-34
84. Meldahl RV, Marshall RC, Scheinman MC: Identification of persons at risk of sudden death. *Med Clin North Am* 1988;72: 1015-1031
85. Mertes PM, El-Abbassi K, Jaboin Y, Michel C, Beck B, Pinelli G, Carteaux JP, Villemot
86. JP, Burlet C: Consequences of coronary occlusion on changes in regional interstitial myocardial neuropeptide Y and norepinephrine concentrations. *J Mol Cell Cardiol* 1996;28:1995-2004
87. Minneman KP: Alpha-adrenergic receptor subtypes inositol phosphates, and sources of cell Ca^{2+} . *Pharmacol Rev* 1988;40
88. Mukherjee A, Wong TM, Buja LM, Lefkowitz RJ: Beta adrenergic and muscarinic cholinergic receptors in canine myocardium. *J Clin Invest* 1979;64:1423-1428
89. Muntz KH, Hagler HK, Boulas HJ, Buja LM: Redistribution of catecholamines in the ischemic zone of the dog heart. *Am J Pathol* 1984;114:64-78
90. Myerburg RJ, Kessler KM, Bassett AL, Castellanos A: A biological approach to sudden cardiac death: structure, function and cause. *Am J Cardiol* 1989;63: 1512-1516
91. Nadeau RA, de Champlain I: Plasma catecholamines in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1979;98:548-554
92. Nayler WG, Sturrock WJ: An inhibitory effect of verapamil and diltiazem on the release of noradrenaline from ischaemic and reperfused hearts. *J Mol Cell Cardiol* 1984;16:331-344
93. Nayler WG, Sturrock WJ: Inhibitory effect of calcium antagonists on the depletion of cardiac norepinephrine during postischemic reperfusion. *J Cardiovasc Pharmacol* 1985; 7:581-587
94. Noris RM, Bensley KE, Caughey DE, Scott PJ: Hospital mortality in acute myocardial infarction. *Br Med* 1968;3:143-146
95. O'Doherty M, Taylor DI, Quinn E, Vincent R, Chamberlain DA: Five hundred patients with myocardial infarction monitored within one hour of symptoms. *Br Med J* 1983;286:1405-1408
96. Pantridge JF, Webb SW, Adgey AAJ: Arrhythmias in the first hours of acute myocardial infarction. *Prog Cardiovasc Dis* 1981;23:265-278
97. Parratt JR: Protection of the heart by ischemic preconditioning: mechanisms and possibilities for pharmacological exploration. *Trends Pharmacol Sci* 1994;15: 19-25
98. Penny WJ: The deleterious effects of myocardial catecholamines on cellular electrophysiology and arrhythmias during ischemia and reperfusion. *Eur Heart J* 1984;5: 960-973
99. Perper JA, Kuller LH, Cooper M: Arteriosclerosis of coronary arteries in sudden unexpected deaths. *Circulation* 1975;52 Suppl. III:27-33
100. Phillips JH: Dynamic aspects of chromaffin granule structure. *Neuroscience* 1982;7: 1 5 95 -1 609

101. Ramasamy R, Liu H, Anderson S, Lundmark J, Schaefer S: Ischemic preconditioning stimulates sodium and proton transport in isolated rat hearts. *J Clin Invest* 1995;96:1464-1472
102. Rapaport E: Sudden cardiac death. *Am J Cardiol* 1988;62:31-61
103. Richards DAB, Byth K, Ross DL, Uther JB: What is the best predictor of spontaneous ventricular tachycardia and sudden death after myocardial infarction? *Circulation* 1991;83: 756-763
104. Richardt G, Waas W, Kranzhöfer R, Mayer E, Schömig A: Adenosine inhibits exocytotic release of endogenous noradrenaline in the rat heart: a protective mechanism in early myocardial ischemia. *Circ Res* 1987;61:117-123
105. Rochette L, Didier J-P, Moreau D, Bralet J: Effect of substrate on release of myocardial norepinephrine and ventricular arrhythmias following reperfusion of the ischemic isolated working rat heart. *J Cardiovasc Pharmacol* 1980;2:267-279
106. Rona G: Catecholamine cardiotoxicity. *J MolCell Cardiol* 1985;17:291-306
107. Sakata Y, Kodama K, Komamura K, et al. Salutory effect of adjunctive intracoronary nicorandil administration on restoration of myocardial blood flow and functional improvement in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1997;133:616-21
108. Sammet S, Graefe KH: Kinetic analysis of the interaction between noradrenaline and Na^+ in neuronal uptake: Kinetic evidence for co-transport. *Arch Pharmacol* 1979;309:99-107
109. Schömig A: Catecholamines in myocardial ischemia, systemic and cardiac release *Circulation* 1990;82:Suppl II; 13-22
110. Schömig A, Beyer T, Rehmen G: Amiloride and analogues suppress noradrenaline release and malignant arrhythmias in the ischemic rat heart. *Circulation* 1989;80:Suppl. II 202.
111. Schömig A, Dart AM, Dietz R, Mayer E, Kübler W: Release of endogenous catecholamines in the ischemic myocardium of the rat. Part A: Locally mediated release. *Circ Res* 1984; 55:689-701
112. Schömig A, Dietz R, Strasser R, Dart AM, Kübler W: Noradrenaline release and inactivation in myocardial ischemia. In: Caldarera CM, Harris P (eds): *Advances in Studies on Heart Metabolism*. CLUEB, Bologna, 1982, pp 239-244
113. Schömig A, Fischer S, Kurz T, Richardt G, Schömig E: Nonexocytotic release of endogenous noradrenaline in the ischemic and anoxic rat heart: Mechanism and metabolic requirements. *Circ Res* 1987;60:194-205
114. Schömig A, Kurz T, Richardt G, Schömig E: Neuronal sodium homeostasis and axoplasmic amine concentration determine calcium-independent noradrenaline release in normoxic and ischemic rat heart. *Circ Res* 1988;63:214-226
115. Schömig A, Ness G, Mayer E, Katus H, Dietz R: Sympathetic activity in patients with acute myocardial infarction before and after intracoronary thrombolytic therapy (abstract). *Eur Heart J* 1984;5(suppl 1):39
116. Schömig A: Adrenergic mechanisms in myocardial infarction: Cardiac and systemic catecholamine release. *J Cardiovasc Pharmacol* 1988;12: Suppl 1:1-7
117. Schumann HJ, Wagner J, Knorr A, Reidemeister JC, Sadony V, Schramm G: Demonstration in human atrial preparations of adrenoceptors mediating positive inotropic effects. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* 1978;302:333-3

118. Schwartz PJ, La Rovere MT, Vanoli E: Autonomic nervous system and sudden cardiac death. *Circulation* 1992;85 (suppl I): 77-91
119. Seiler C, Billinger M. Adenosine-induced preconditioning of human myocardium? *Circulation* 1998;98:8245
120. Sethi V, Haider B, Ahmed SS, Oldewurtel HA, Regan TJ: Influence of beta blockade and chemical sympathectomy on myocardial function and arrhythmias in acute ischaemia. *Cardio*
121. Seyfarth M, Feng Y, Hagl S, Sebening F, Richardt G, Schömig A: Effect of myocardial ischemia on stimulation-evoked noradrenaline release. *Circ Res* 1993;73:496-502
122. Seyfarth M, Richardt G, Mizsnyak A, Kurz T, Schömig A: Transient ischemia reduces norepinephrine release during sustained ischemia: neural preconditioning in isolated rat heart. *Circ Res* 1996;78:573-580
123. Shahab L, Wollenberger A, Haase M, Schiller U: Noradrenalinabgabe aus dem Hundeherzen nach vorübergehender Okklusion einer Koronararterie. *Acta Biol Med Germ* 1969; 22:135-143
124. Sheridan DJ, Penkoske PA, Sobel BE, Corr PB: α -Adrenergic contributions to dysrhythmia during myocardial ischemia and reperfusion in cats. *J Clin Invest* 1980;65:161-171
125. Shiki K, Hearse DJ: Preconditioning of ischemic myocardium: reperfusion-induced arrhythmias. *Am J Physiol* 1987;253:H1470-H1476
126. Shindo T, Akiyama T, Yamazaki T, Ninomiya I: Regional myocardial interstitial norepinephrine kinetics during coronary occlusion and reperfusion. *Am J Physiol* 1996; 270:H245-H251
127. Shipolini AR, Yokoyama H, Galinanes M, Edmondson SJ, Hearse DJ, Avkiran M: Na^+/H^+ exchanger activity does not contribute to protection by ischemic preconditioning in the isolated rat heart. *Circulation* 1997;96:3617-3625
128. Sibley DR, Benovic JL, Caron MG, Lefkowitz RI: Regulation of transmembrane signaling by receptor phosphorylation. *Cell* 1987;48:913-922.
129. Siggers DC, Salter C, Muck DC: Serial plasma adrenaline and noradrenaline levels in myocardial infarction using a new double isotope technique. *Br Heart J* 1971;33:878-883
130. Simkhovich BZ, Whittaker P, Przyklenk K, Kloner RA: Transient pre-ischemic acidosis protects the isolated rabbit heart subjected to 30 minutes, but not 60 minutes, of global ischemia. *Basic Res Cardiol* 1995;90:397-403
131. Siscovick DS, Laporte RE, Newman JM: The disease-specific benefits and risks of physical activity and exercise. *Publ Hlth Rep* 1985;100: 180-188
132. Smedes F, Kraak JC, Poppe H: Simple and fast solvent extraction system for selective and quantitative isolation of adrenaline, noradrenaline and dopamine from plasma and urine. *J Chromatogr* 1982;231:25-39
133. Speechly-Dick ME, Mocanu MM, Yellon DM: Protein Kinase C: Ist role in ischemic preconditioning in the rat. *Circ Res* 1994;75:586-590
134. Starke K: Regulation of noradrenaline release by presynaptic receptor system. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1977; 77:1-124
135. Statistisches Bundesamt 1985

136. Steenbergen C, Perlman ME, London RE, Murphy E: Mechanism of preconditioning: ionic alterations. *Circ Res* 1993;72:112-125
137. Strasser RH, Krimmer J, Dulleus B, Marquotant R, Kübler W: Dual sensitization of the adrenergic system in early myocardial ischemia: independent regulation of the α_1 -adrenergic receptors and the adenylyl cyclase. *J Mol Cell Cardiol* 1990; 22:1405-1423
138. Strasser RH, Marquetant R: Supersensitivity of the adenylyl cyclase system in acute myocardial ischemia: evaluation of three independent mechanisms. In: Heusch, G., J. Ross Jr. (eds.): *Adrenergic Mechanisms in Myocardial Ischemia*. Steinkopff, Darmstadt 1990, p. 67-78
139. Strasser RH, Krimmer I, Marquotant R: Regulation of α_1 -adrenergic receptors: impaired desensitization in myocardial ischemia. *Cardiovasc Pharmacol* 1988;12: Suppl. 1, S15-S24
140. Strauer BE, Heidland UE, Heintzen MP, et al. Pharmacologic myocardial protection during percutaneous transluminal coronary angioplasty by intracoronary application of dipyridamole: impact on hemodynamic function and left ventricular performance. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:1119-26
141. Stute N, Trendelenburg U: The outward transport of axoplasmic noradrenaline induced by a rise of the sodium concentration in the adrenergic nerve endings of the rat vas deferens. *Arch Pharmacol* 1984;327:124-132
142. Takasaki Y, Adachi N, Dote K, Tsubota S, Yorozuya T, Arai T: Ischemic preconditioning suppresses the noradrenaline turnover in the rat heart. *Cardiovasc Res* 1998;39:373-380
143. Thames MD, Klopfenstein HS, Abboud FM, Mark AL, Walker JL: Preferential distribution of inhibitory cardiac receptors with vagal afferents to the inferoposterior wall of the left ventricle activated during coronary occlusion in the dog. *Circ Res* 1978;43:512-519
144. Thomas A, Knapman P, Krikler D, Davies MJ (1988) Community study of the causes of 'natural' sudden death. *Br. Med. J.* 297: 1453-1456
145. Toll L, Howard BD: Role of Mg^{2+} -ATPase and a pH gradient in the storage of catecholamines in synaptic vesicles. *Biochemistry* 1978;17:2517-2523
146. Toombs CF, Wiltse AL, Shebuski RJ: Ischemic preconditioning fails to limit infarct size in reserpinized rabbit myocardium: Implication of norepinephrine release in the preconditioning effect. *Circulation* 1993;88:2351-2358
147. Trendelenburg U: The dynamics of adrenergic nerve endings. In Brachmann J, Schömig A (eds): *Adrenergic System and Ventricular Arrhythmias in Myocardial Infarction*. New York Berlin Heidelberg, Springer-Verlag, 1989, pp 53-60
148. Vatner DE, Knight DR, Shen YT, Thomas JX, Homey CJ, Vatner SF: One hour of myocardial ischemia in conscious dogs increases α_1 -adrenergic receptors, but decreases adenylyl cyclase activity. *J Molec Cell Cardiol* 1988;20:75-82.
149. Vatner DE, Young MA, Knight DR, Vatner SF: α_1 -Receptors and adenylyl cyclase: comparison of nonischemic, ischemic, and postmortem tissue. *Am J Physiol* 1990;258: H140-H144.
150. Vegh A, Komoro S, Szekeres L, Parrat JR: Antiarrhythmic effects of preconditioning in anaesthetized dogs and rats. *Cardiovasc Res* 1992;26:487-495
151. Verrier RL, Thompson PL, Lown B: Ventricular vulnerability during sympathetic stimulation: role of heart rate and blood pressure. *Cardiovasc Res* 1974;8:602-610.

152. Videback J, Christensen NJ, Sterndorff B: Serial determination of plasma catecholamines in myocardial infarction. *Circulation* 1972;46:846-855
153. Vigne P, Frelin C, Cragoe EJ Jr, Lazdunski M: Ethylisopropylamiloride: a new and highly potent derivative of amiloride for the inhibition of the $\text{Na}^+ \text{H}^+$ exchange system in various cell types. *Biochem Biophys Res Commun* 1983 116:86-90
154. Wainwright CL, Parrat JR: An antiarrhythmic effect of adenosine during myocardial ischemia and reperfusion. *Eur J Pharmacol* 1988;145:183-194
155. Waldenström AP, Hjalmarson AC, Thornell L: A possible role of noradrenaline in the development of myocardial infarction. *Am Heart J* 1978;95:43-51
156. Winkler H, Apps DK, Fischer-Colbrie R: The molecular function of adrenal chromaffin granules: established facts and unresolved topics. *Neuroscience* 1986;18:261-290
157. Wollenberger A, Shahab L: Anoxia-induced release of noradrenaline from the isolated perfused heart. *Nature* 1965; 207:88-89
158. Yusuf S, Peto R, Lewis J, Collins R, Sleight P: Beta blockade during and after myocardial infarction: an overview of the randomized trials. *Progr Cardiovasc Dis* 1985;27:335-371
159. Zehender M, Faber T, Wies C, Koscheck U, Furtwängler A: Risk stratification and characteristics of life-threatening tachyarrhythmias induced by transient myocardial ischemia. (abstract) *Circulation* 1993;88 (suppl I): I-60
160. Zehender M, Faber T, Just H: Akute Myokardischämische, ventrikuläre Tachyarrhythmien und plötzlicher Herztod. *Dtsch med Wschr* 1994;119: 1786-1791
161. Zhai X, Lawson CS, Cave AC, Hearse DJ: Preconditioning and post-ischemic contractile dysfunction: the role of impaired oxygen delivery vs extracellular metabolite accumulation. *J Mol Cell Cardiol* 1993;35:847-857

9 Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Bernd Kinter
 geb: 12. Juli 1966 in Stuttgart als erstes von zwei Kindern
 Eltern: Prof. Klaus Kinter und Jutta Kinter, geb. Selbach
 Staatsangehörigkeit: deutsch
 Familienstand: verheiratet, 1 Kind

Schulbildung:

1973-1977 Grundschule Geradstetten.
 1977-1986 Remstalgymnasium Weinstadt.

Dienst:

1986-1988 Zivildienst beim Deutschen Roten Kreuz Aalen.
 1988/89 FSJ im Kreiskrankenhaus Esslingen a. Neckar.

Studium:

1989-1995 Studium der Veterinärmedizin an der Ludwig Maximilians Universität in München.
 1994 Internship Colorado State University/USA, large animal hospital/ equine surgery.

Weiterbildung:

1995-1998 Assistenztierarzt Tierärztliche Klinik für Pferde
 Dres. H. Lutz, U. Heidbrink und T. Möllmann in
 Aschheim/München.
 1998-2001 Assistenztierarzt Tierärztliche Klinik für Pferde
 Dr. M. Scheuerer Schierling/Regensburg
 seit 2000 Fachtierarzt für Pferde
 seit Januar 2001 Teilhaber einer tierärztlichen Klinik für Pferde
 in Brielow/Brandenburg
 Turnier-/ Rennbahntierarzt

10 Danksagung

Herrn Prof. Dr. B. Gänsbacher danke ich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Herrn Prof. Dr. A. Schömig danke ich für seine Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. M. Stangassinger danke ich für die Beratung und Übernahme der Arbeit an die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Herrn Professor Dr. W. Erhardt möchte ich für die Durchsicht meiner Arbeit und die konstruktiven Anmerkungen danken.

Danken möchte ich auch Herrn PD Dr. med. Dr. med. habil. M. Seyfarth für die Überlassung des Themas dieser Arbeit, seine Anregungen und seine Unterstützung.

Ebenso danke ich meinem Bruder Jochen für seine Unterstützung bei Problemen mit der modernen Datenverarbeitung.